

VIII CONGRESO DE ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA AGRONÓMICA



Libro de Actas

Editado por:

Martina Balazova, María Rodríguez Francisco, Pilar García Rebollar

10 de mayo de 2016

**Escuela de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas
Universidad Politécnica de Madrid**



Imprime el servicio de publicaciones de la
Escuela de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas
De la Universidad Politécnica de Madrid

I.S.B.N.: 978-84-7401-223-1

Referencias: VIII CONGRESO ESTUDIANTES

Edición: Mayo 2016

Maquetación: Martina Balazova



Escuela Técnica Superior de
Ingenieros Agrónomos



VIII CONGRESO DE ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas**

Madrid, 10 de mayo de 2016

COMITÉ ORGANIZADOR

Pilar García Rebollar
Augusto Arce Martínez

Estudiantes

Martina Balazova
María Rodríguez Francisco

Comité científico

M^a Antonia Bañuelos Bernabé
Raúl Sánchez Calvo Rodríguez
Mercedes Flórez García
José María Fuentes Pardo
Ana Isabel García García
Ignacio Mariscal Sancho

David Menoyo Luque
Margarita Ruiz Ramos
José Francisco Vázquez Muñiz
Morris Villarroel Robinson
Carlos Hernández Díaz-Ambrona
Silverio Alarcón Lorenzo

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a la Fundación Premio Arce, a la Comunidad de Madrid a través del Proyecto MEDGAN (S2013/ABI-2913), a NANTA S.A., Editorial Agrícola Española, y a la Cátedra Fertiberia como patrocinadores de este evento.

AGRADECIMIENTOS.....	2
SESIÓN C1	7
LOS BANCOS DE INTERCAMBIO DE SEMILLAS PRESERVAN LA BIODIVERSIDAD	9
RESULTADOS PRELIMINARES DE UNA RESTRICCIÓN DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO FETO PLACENTARIO EN CONEJAS.....	13
EFFECTOS DEL PAGO VERDE DE LA PAC 2020 EN EL SECTOR AGRARIO ESPAÑOL	17
LOS RIZOBIOS SE COMUNICAN CON LAS LEGUMINOSAS INYECTÁNDOLES PROTEÍNAS	21
RECONSTITUTION AND ANALYSIS OF DIACHRONIC LAND USE SERIES: APPLICATION IN BOURDIC'S WATERSHED, FRANCE	25
IMPROVING THE GENETIC PROGRAM FOR THE PIRENAICA BOVINE BREED	29
DETECCIÓN DE VARIABILIDAD MACROSCÓPICA DE FUSARIUM PROLIFERATUM MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN	33
PLAN DE ORDENACIÓN DE LOS PASTOS EN LA DEHESA LOMO PERAL, MONTE DE UTILIDAD PÚBLICA NÚMERO 106 EN PRÁDENA DEL RINCÓN (MADRID)	37
OCCURRENCE OF EMERGING CONTAMINANTS IN RICE PLANTS FROM VALENCIA, SPAIN.....	41
SESIÓN C2	45
ALIMENTOS TRANSGÉNICOS.....	47
¿ES CORRECTO Y SUFICIENTEMENTE INFORMATIVO SU ETIQUETADO EN EL MERCADO ESPAÑOL?	47
VALORACIÓN DE LA CASTAÑA COMO ALIMENTO DEL CERDO GOCHU ASTURCELTA EN RÉGIMEN EXTENSIVO.....	51
DESARROLLO DE UNA APLICACIÓN INFORMÁTICA PARA EL CÁLCULO AUTOMATIZADO DE INDICADORES AMBIENTALES EN ACTIVIDADES AGRÍCOLAS A PARTIR DE LOS CUADERNOS DIGITALES DE EXPLOTACIÓN	55
IDENTIFICACIÓN DE LOS ESCURRIDIZOS RIZOBIOS QUE NODULAN EL GARBANCILLO DE TALLANTE PARA MEJORAR SU CONSERVACIÓN.....	59
ESTUDIO PRELIMINAR DE ANTIOXIDANTES SOBRE LA CALIDAD DEL SEMEN DE CONEJO	63
ESPECTROSCOPIA VISIBLE E INFRARROJO CERCANO PARA EL ESTUDIO DE SUELOS AGRÍCOLAS.....	67
PRUEBA DE LETALIDAD EMBRIONARIA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA Y LA VIRULENCIA DE ENTEROCOCCUS FAECALIS EN PONEDORAS.....	71
BENEFITS OF USING CHP IN FOOD INDUSTRY	75
DISEÑO DE UN CENTRO DE CAPACITACIÓN AGRÍCOLA EN LOUKOLELA (REPÚBLICA DEL CONGO).....	79
SESIÓN P	83
INVESTIGACIÓN MEDIOAMBIENTAL EN UNA GRANJA VIRTUAL	85
CAFÉ: CULTIVO Y ANÁLISIS SENSORIAL	89
ANALYSIS OF EMERGING CONTAMINANTS IN ORYZA SATIVA BY ULTRASOUND ASSISTED- MATRIX SOLID PHASE DISPERSION AND GC-MS.....	93
ENFERMEDAD DE POMPE	97
EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE FUENTES DE ESTRUCTURA FIBROSA EN DIETAS DE POLLOS EN CRECIMIENTO, SOBRE PARAMETROS PRODUCTIVOS Y DESARROLLO DE MOLLEJA	101
¿QUÉ PODEMOS HACER PARA MEJORAR EL	105
INTERVALO DESTETE-CUBRICIÓN FÉRTIL?	105

IMPACTO DE LOS GRADOS DÍA DE AYUNO SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL Y LA CALIDAD DE LA CARNE EN TRUCHA ARCOÍRIS	109
DROP-IN BIOFUELS TECHNOLOGIES: JATROPHA CURCAS L., AN ALTERNATIVE CROP FOR BIODIESEL TO ENERGETICALLY ISOLATED FARMS IN ANGOLA	113
CÓMO OBTENER CARNE DE CONEJO ENRIQUECIDA CON OMEGA 3.....	117
DIFERENCIAS FENOTÍPICAS EN EL INTERVALO ENTRE PARTOS SEGÚN EL MES DE PARTO DE LA RAZA LIMUSINA PARA DISTINTAS ZONAS GEOGRÁFICAS EN ESPAÑA.....	121
ÍNDICE DE PALABRAS CLAVES	127
ÍNDICE AUTORES	129
ÍNDICE TUTORES.....	131

SESIÓN C1



LOS BANCOS DE INTERCAMBIO DE SEMILLAS PRESERVAN LA BIODIVERSIDAD

Brito García, Lucía;

Tutores: Martín Fernández, Carmen; Mira Pérez, Sara

¹Departamento de de Biotecnología-Biología Vegetal. E.T.S.IAgrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.
lucia.brito.garcia@alumnos.upm.es

RESUMEN

Los Bancos de Intercambio de Semillas han surgido recientemente con el fin de facilitar el intercambio entre agricultores, principalmente de variedades locales, promoviendo simultáneamente su conservación.

El valor intrínseco de las semillas, no solo genético y biológico sino también cultural y tradicional, hace de este material un recurso a proteger. Los Bancos de Intercambio recogen en su actuación todos estos puntos de vista. La conservación y dispersión de variedades agrícolas locales, algunas de ellas ya casi inexistentes, resulta imprescindible para la protección de la biodiversidad, la sabiduría en su utilización, e implica un paso hacia la soberanía agraria y alimentaria.

Palabras clave: *conservación, diversidad, variedades locales.*

INTRODUCCIÓN

Uno de los avances agrícolas de mayor impacto en los últimos años ha sido el desarrollo de plantas genéticamente mejoradas. Se trata de un producto mundialmente utilizado y extendido, controlado, dependiendo del país, por derechos de patente y obtentor que (Bravo, 2015), en algunos casos ha supuesto un cambio importante en las prácticas agrícolas de comunidades rurales.

La tendencia a una agricultura especializada en el monocultivo, el uso excesivo de pesticidas y fertilizantes, y el uso de semillas con una alta homogeneidad genética, ha favorecido la pérdida de una gran variedad de cultivares agrícolas locales. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en el último siglo más del 75 por ciento de las variedades cultivadas han desaparecido (FAO, 2010). Este empobrecimiento genético genera una uniformidad que hace a los cultivos actuales vulnerables ante una posible situación de amenaza, como la aparición de nuevas cepas de agentes patógenos (Shiva y Shroff, 2015).

A causa de la especialización agrícola nuestra alimentación hoy depende en un 70% únicamente de 12 especies vegetales, entre las cuales arroz, maíz, trigo y patata nos proporcionan la mitad de las calorías que ingerimos (FAO, 2002). Esta simplificación de la dieta mundial en los últimos años ha causado el aumento de enfermedades crónicas y la aparición de nuevas patologías, como el hambre oculta, que según la Organización Mundial de la Salud afecta a unos 2000 millones de personas en forma de carencia de yodo (OMS, 2012).

En este contexto, el papel de los Bancos de Intercambio de Semillas como estructuras de conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos contribuye en la conservación de la biodiversidad agrícola, y además facilita el acceso a material de siembra a agricultores de países emergentes.

En este trabajo se recoge el origen, modo de trabajo, y situación mundial y local de los Bancos de Intercambio de Semillas. Se pretende dar a conocer el trabajo que realizan estas iniciativas para la recuperación y la conservación de variedades agrícolas tradicionales.



ORIGEN DE LOS BANCOS DE INTERCAMBIO DE SEMILLAS

En 1988, como resultado del programa 'Seeds Of Survival' de la organización Unitarian Service Committee Canada, en Etiopía nace el primer Banco de Intercambio de Semillas, con el objetivo de conservar especies locales y de facilitar el acceso de los agricultores a las mismas (USC Canada, 2015). Estas organizaciones se apoyan en políticas de Agricultura y Desarrollo Rural Sostenible promovidas por la FAO, como el Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (TI/RFAA) (Distefano *et al.*, 2007), vinculado con el Convenio sobre la Diversidad Biológica. Este acuerdo declara la necesidad imperante de conservación, uso sostenible y distribución justa de los recursos fitogenéticos. Entre los aspectos destacados se expone la necesidad de: promover la conservación *in situ*, entendida como el mantenimiento de las especies en sus hábitats naturales, en el caso agrícola tratar de mantener el cultivo de variedades locales; fomentar la conservación *ex situ*, mediante la búsqueda, recogida y conservación de material genético vegetal, como las semillas; ayudar a la conservación en fincas, mediante el uso de variedades locales.

En ciertos países como Brasil, el gobierno se ha interesado en apoyar y establecer Bancos y Redes de Intercambio de Semillas, como parte de sus programas de conservación (Bioversity International, 2015). Se trata de organizaciones no gubernamentales, de alcance nacional e internacional, cuyo objetivo general es conservar, recopilar y distribuir semillas, en especial, pero no solamente, de variedades locales. Estas iniciativas se basan en principios de seguridad y soberanía alimentaria, por ejemplo, pretenden enriquecer la dieta, conservar variedades locales e identificar variedades resistentes al cambio climático. En su mayoría nacen en zonas rurales y están formados por comunidades agrícolas, por lo que junto con su trabajo de conservación desarrollan una actividad social.

MODO DE TRABAJO

¿Cómo trabajan los Bancos de Intercambio? Teniendo en cuenta las características y variabilidad local, se distinguen tres tipos:

1. Bancos enfocados a la conservación de variedades locales mediante la búsqueda, recolección, dispersión y reutilización de semillas. En estos bancos la conservación *in situ* mediante el cultivo es el principal objetivo. Aunque es común la presencia de una estructura para la conservación *ex situ* que permita el almacenamiento de semillas viables y su regeneración anual (Wilder, 2015).
2. Dirigidos a facilitar el acceso y disponibilidad de las semillas. En estos bancos y redes se realizan dos tipos de cambios. El primero consiste en un cambio sin coste monetario. Se entrega una cantidad de semillas al agricultor, de la cual deberá devolver la mitad en su siguiente cosecha. Este grupo presta servicio, por lo general, en zonas empobrecidas o afectadas por una catástrofe natural. En otros casos el agricultor paga una cantidad de dinero por las semillas que se lleva, pero puede seleccionar las variedades que adquiere, por lo general de cultivares locales en desuso.
3. La mayoría de bancos basan su actividad en un enfoque combinado. Su trabajo se basa en garantizar el acceso de los agricultores a semillas de variedades locales, y de forma conjunta, en parcelas de conservación, perpetuar y multiplicar las semillas de las que disponen. La combinación de conservación, almacenamiento y distribución o venta, aumenta la capacidad de trabajo y sostenibilidad de los bancos.

Aunque por lo general los Bancos de Intercambio de Semillastrabajen de acuerdo a unos principios comunes, la forma de gestión es muy variada. En Karnataka, India, la formación de nuevos bancos es apoyada por la organización Green Foundation, que ayuda a configurar tres cuerpos de gobierno: una asamblea general, un consejo de administración y un comité de supervisión, formados por la población local, frecuentemente mujeres (Green Foundation, 2013). A menudo, la comunidad también

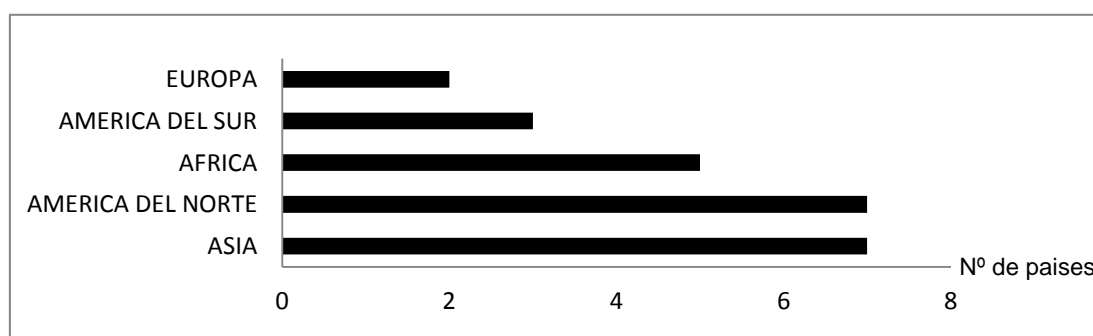


elige un comité de gestión encargado de supervisar la coordinación, dirección y financiación del banco. Los mismos miembros de este órgano se encargan de la toma de decisiones sobre los métodos de recolección, restitución, saneamiento y distribución de semillas, pero en este caso como comité técnico.

SITUACIÓN MUNDIAL Y LOCAL

La distribución mundial actual de Bancos de Intercambio de Semillas es muy variada. El número concreto de países con estas iniciativas es incierto debido a que existen Bancos de Intercambio cuya intervención solo es de carácter local y, por tanto, no se dispone de datos. Son 24 los países con bancos provistos de una red de comunicación más desarrollada, en los que la interacción nacional e internacional con diversas organizaciones es compatible. Nepal, Brasil, India y Nicaragua son países pioneros, en los que el número de estas iniciativas asciende a más de 100 actualmente.

Figura 1. Número de países, por continente, en los que existen Bancos de Intercambio de Semillas.



En 1955, al norte del estado Tocantins, Brasil, se formó el primer Banco de intercambio de Semillas de la región en colaboración con la Fundação Nacional do Índio y la Empresa Brasileña de Investigación Agropecuaria. El objetivo era facilitar semillas locales a las poblaciones indígenas que habían perdido sus cosechas. Se consiguió localizar y reproducir veinte variedades de arroz, quince variedades de habas, quince variedades de boniato, y diez variedades de maíz. Mediante la distribución de semillas y la creación de conexiones entre las distintas comunidades, este banco ha conseguido la autosuficiencia de los 28 pueblos en los que se divide la población indígena Krahô (Bioversity International, 2015).

En España los Bancos de Intercambio de Semillas se presentan en forma de redes locales de semillas. Estas organizaciones descentralizadas tienen como objetivo reintroducir variedades locales y tradicionales en los sistemas agrícolas, y difundir conocimientos sobre prácticas de cultivos y el manejo de agrosistemas tradicionales. Existen redes locales de semillas en todas las comunidades autónomas de España, todas ellas forman la Red de Semillas: “Resembrando e Intercambiando”.

Como caso particular, en Madrid, La Asociación La Troje, es una red de semillas que ha conseguido recuperar y multiplicar variedades tradicionales de La Sierra Norte como la cebolla matancera, las cerezas adoñas, la ciruela imperial, la judía garbancera, la judía ochavada y la judía ombligo de la reina (Asociación La Troje, 2016). Entre la actividad más destacada de estas organizaciones se encuentra la Campaña “Derecho de los agricultores al Uso y Conservación de la Biodiversidad”, realizada en 2001, cuyo objetivo era informar sobre la necesidad de una política activa, que descentralice el control sobre el mercado de semillas y permita el libre movimiento de las mismas. Por otra parte, en 2011 la Red Andaluza de Semillas con el objetivo de reintroducir variedades tradicionales recopiló una guía de su manejo.



CONCLUSIONES

Los Bancos de Intercambio de Semillas son organizaciones cuyo objetivo es la conservación de semillas a nivel local y su distribución a los agricultores. El aumento de su número en los últimos años pone de manifiesto el interés por programas de conservación que faciliten el acceso a las variedades agrícolas. En la actualidad, son las Organizaciones No gubernamentales y agentes de inversión los que facilitan el apoyo material, técnico y financiero a estas iniciativas. La consolidación de los Bancos de Intercambio de Semillas como instituciones solo será posible con el desarrollo de un marco legal de acción y el apoyo por parte de los gobiernos. El objetivo a medio plazo de los Bancos de Intercambio de Semillas es aumentar el número de variedades del que disponen y la cantidad de agricultores que acceden a sus semillas. La consecución de este objetivo supondría un avance en la conservación de la biodiversidad agrícola.

BIBLIOGRAFÍA

- Asociación La Troje, (2016). Catálogo de variedades La Troje 2016. Recuperado el 30 de Marzo de 2016, de <http://www.latroje.org/images/catalogo/catalogo%202016.pdf>.
- Bravo, E. (2005). Derechos de propiedad intelectual y los OGM. Recuperado el 15 de Marzo de 2016, de <https://www.grain.org/es/article/entries/1064-derechos-de-propiedad-intelectual-y-los-ogm>.
- Bioversity International, (2015). Community Seed Banks. Abingdon: Routledge.
- Distefano E., Toledo A., Egal F., Hoeschle-Zeledon I., Eyzaguirre P., Sthapit B. (2007). AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL SOSTENIBLE (ADRS) SUMARIO DE POLÍTICA 16. Recuperado el 20 de Marzo de 2016, de <ftp://ftp.fao.org/sd/sda/sdar/sard/SARD-agri-biodiversity%20-%20spanish.pdf>.
- FAO, (2002). ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN, ayudar a construir un mundo sin hambre, Es cuestión de supervivencia. Recuperado el 15 de Marzo de 2016, de http://www.fao.org/spanish/newsroom/action/ag_treaty.htm.
- FAO, (2010). ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN, ayudar a construir un mundo sin hambre, Biodiversidad agrícola: utilizarla para que no se pierda. Recuperado el 10 de Marzo de 2016, de <http://www.fao.org/news/story/es/item/46805/icode/>.
- Green Foundation, (2013). GREEN Foundation, Community Seed Banks. Recuperado el 20 de Marzo de 2016, de <http://www.greenconserve.com/content/community-seed-banks>.
- OMS, (2012). 10 datos sobre la nutrición. Recuperado el 10 de Marzo de 2016, de <http://www.who.int/features/factfiles/nutrition/es/>.
- Shiva V. y Shroff R., (2015). Satyagraha for Seed Freedom and Food Freedom. Florencia: Navdanya International, The National Heirloom Exposition.
- USC CANADA, (2015). Seeds of Survival. Recuperado el 25 de Marzo de 2016, de <http://usc-canada.org/what-we-do/seeds-of-survival>.
- Wilder, J. (2015). Native Seeds/SEARCH. Recuperado el 17 de Marzo de 2016, de <http://www.nativeseeds.org/our-approach/seed-bank>.



RESULTADOS PRELIMINARES DE UNA RESTRICCIÓN DE LA ALIMENTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO FETO PLACENTARIO EN CONEJAS

Meza, Aydee; Bueno, Aurora; De Diego, Álvaro

Tutores: Rodríguez, M.; Rebollar, Pilar G.

Departamento de Producción Agraria. E.T.S. I. Agronómica, Agroambiental y de Biosistemas. UPM
aydeemezach@gmail.com

RESUMEN

Se realizó un experimento con el fin de evaluar las consecuencias de la restricción de alimento en gestación sobre el desarrollo feto-placentario en conejas primíparas. Se utilizaron 122 conejas y se dividieron en 4 grupos: Control (consumo *ad libitum* toda la gestación, n=30), y restringidas al 40% de su consumo voluntario la primera semana (R07; n=31), la segunda y tercera semana (R721; n=31) y las 3 primeras semanas (R021; n=30) de gestación. En la cuarta y última semana de gestación disponían de pienso *ad libitum* y todos los grupos que habían estado restringidos aumentaron significativamente el consumo de pienso con respecto a las controles de manera proporcional al tiempo de duración de la restricción. A los 28 días de gestación dos conejas de cada grupo, se sacrificaron para evaluar el desarrollo feto-placentario. Los fetos de las conejas controles y de las R07 tendieron a pesar más que los de los otros grupos. No se observó un efecto directamente proporcional entre el tiempo que duró la restricción y la eficiencia feto-placentaria y tras el análisis de estos resultados preliminares consideramos que el periodo concreto en que se realiza la restricción parece ser más importante que la duración de la misma. Las distintas pautas de restricción no afectaron al número de nacidos vivos y muertos ni a los pesos de los gazapos al nacimiento de las conejas que llevaron su gestación a término. Por tanto, como conclusión podemos decir que la restricción de alimento en gestación no ha empeorado, en general, los parámetros productivos a parto de las conejas. No obstante, queda por confirmar cómo se ve afectada la eficiencia de la placenta dependiendo de la duración de la misma y de la fase en que se aplique, así como el modo en que podría incidir en el reparto de nutrientes de la madre a los fetos y de gestión de reservas en la lactación posterior.

Palabras clave: coneja, restricción, feto-placentario

INTRODUCCIÓN

Según Anderson y Henck (1994), el periodo de gestación en la coneja puede dividirse para su estudio en 3 etapas: 1) entre la fertilización de los ovocitos y la implantación (0-7 días), 2) la placentación y después la organogénesis fetal (8-21 días), y 3) el crecimiento fetal (22-31 días). Las primeras semanas de gestación no implican un gasto energético muy acusado en la madre gestante y su consumo es moderado. No obstante, se trata de una fase crítica que puede definir la tasa de implantación embrionaria y el desarrollo de la placenta, factores limitantes para un buen crecimiento fetal que se lleva a cabo en el último tercio de la gestación en el que la falta de espacio en la cavidad abdominal afecta negativamente al consumo de la madre (Fortun-Lamothe, 2006). La placenta presenta tres zonas: la laberíntica o fetal, donde se produce la mayor parte del intercambio de nutrientes; la endocrina, encargada de la producción de hormonas y la decidua o materna que se une al útero, y tiene un sistema arterial encargado de controlar la velocidad del flujo sanguíneo materno intraplacentario. A pesar de que en condiciones normales la placenta presenta una correlación positiva con el peso del feto (a mayor peso placentario, mayor peso fetal), en situaciones de restricción alimentaria moderada la placenta de la coneja es capaz de adaptar su morfología y funcionalidad en beneficio de la gestación, reduciendo su tamaño para optimizar su eficiencia y, por lo tanto, favoreciendo el crecimiento fetal (López-Tello *et al*, 2015). Tanto el déficit como el exceso de alimento durante la gestación pueden afectar a



la prolificidad y, por consiguiente, es necesario encontrar un equilibrio entre el gasto económico que supone la alimentación, pero sin perjudicar al desarrollo fetal, de la camada y el bienestar de la coneja. La aplicación de una restricción del alimento en gestación podría ser una estrategia positiva para los cunicultores ya que la alimentación representa más del 60% de los costes de producción (Rosell y Fluvía, 2015) y en estos últimos años ha tenido lugar un cierto declive en sus beneficios debido a la bajada de precios de la venta de gazapos y al elevado precio del pienso. Por tanto, el objetivo del presente trabajo ha sido estudiar el efecto que tiene una restricción alimentaria del 40% de las necesidades nutricionales de las conejas en distintos periodos de la gestación, sobre el desarrollo feto-placentario y sus parámetros productivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 122 conejas (Neozelandés blanco × Californiano), alojadas en la granja experimental de la E.T.S.I. Agronómica, Agroambiental y de Biosistemas de Madrid bajo condiciones ambientales controladas (20-25°C, 16HL:8HO). Todas las conejas se inseminaron artificialmente el mismo día con una mezcla heterospérmica de semen fresco y para inducirles la ovulación se les aplicó una inyección intramuscular con 20 µg de gonadorelina (Inducel-GnRH, Lab. Ovejero, España). La inseminación artificial (IA) se realizó a 32 días del primer parto y tras 5 días del destete. Se distribuyeron al azar en cuatro grupos experimentales tal y como muestra la tabla 1, realizándose una restricción de alimento del 40% del consumo voluntario observado en su primera gestación. Se les suministró un pienso con 2400 kcal de energía digestible/kg, 35% de fibra neutro detergente y 16% de proteína bruta, controlándose el consumo durante los periodos que dispusieron de alimentación *ad libitum*.

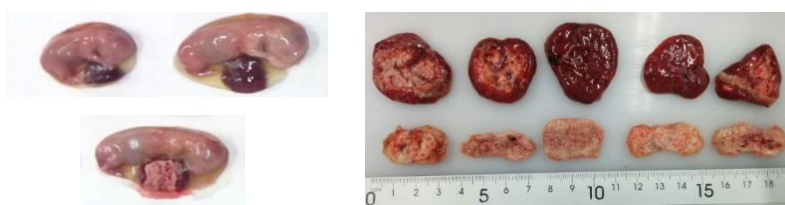
Tabla 1. Diagrama de restricción de alimento durante la gestación.

Grupo	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Control (n=30)	<i>Ad libitum</i>			
R07 (n=31)	Restringido	<i>Ad libitum</i>		
R721 (n=30)	<i>Ad libitum</i>	Restringido	<i>Ad libitum</i>	
R021 (n=31)	Restringido		<i>Ad libitum</i>	

R07: restricción 0-7 días, R721: restricción 7-21 días, R021: restricción de 0-21 días

El día 28 de gestación (final día 31) se sacrificaron 8 conejas (2 de cada grupo) según RD 53/2013, con el fin de determinar el desarrollo feto-placentario extrayendo el tracto reproductor y abriendo longitudinalmente los cuernos uterinos. Tras el recuento y apertura de los sacos fetales, se separó el feto de la placenta. Las placentas materna (decidua) y fetal (laberinto), se pesaron unidas y por separado. Se pesó el feto y se calculó el ratio peso feto/peso placenta para calcular la eficiencia placentaria (Imagen 1).

Imagen 1. Fetos y placentas de conejas a 28 días de gestación. Fuente: UPM.



La gestación de las conejas restantes (114 en total de los cuatro grupos) se llevó a término con el fin de determinar la fertilidad [(número de partos/número de inseminaciones) ×100] y la prolificidad (nacidos vivos y muertos).

Para analizar estadísticamente los resultados se utilizó el software SAS (SAS Institute Inc., 2001). Se analizó el peso de los fetos y las placentas, el consumo y la prolificidad, así como

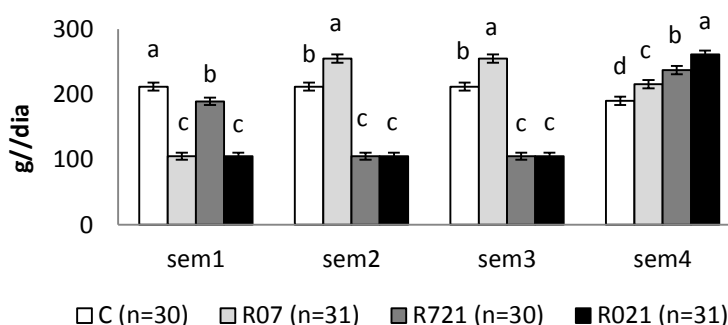


los pesos a nacimiento mediante un análisis de varianza (proc glm), considerando los tipos de restricción como efecto principal y el tamaño de camada como covariable. Para analizar la fertilidad se utilizó una Chi-cuadrado (χ^2 , proc catmod).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se observa el consumo de los distintos grupos experimentales durante toda la gestación (expresado semanalmente). El consumo de alimento en la cuarta semana fue estadísticamente distinto entre grupos ($p < 0,05$), incrementándose significativamente cuanto mayor había sido la intensidad de la restricción previa. López-Tello *et al.* (2015) observaron resultados similares aplicando una restricción del 50% y estudios llevados a cabo por Manal *et al.*, (2010) también observaron que la coneja aumenta su consumo voluntario al reestablecer el suministro de pienso *ad libitum* en el último tercio de la gestación, tras una restricción alimentaria en las semanas previas, justamente cuando las necesidades fetales son mayores (Symeon *et al.*, 2015). Esto puede deberse a que la coneja trata de compensar la falta de alimento sufrida anteriormente y se observa claramente en el grupo R07, cuyo consumo fue significativamente mayor al de las controles en la 2ª y 3ª semana de gestación ($p < 0,05$). Por su parte, las conejas alimentadas *ad libitum* durante toda la gestación, redujeron su consumo voluntario en un 25-50% al final de la misma, confirmando resultados previos de Fortun-Lamothe (2006).

Figura 1. Consumo de alimento (g/día) durante la gestación.
Distintas letras muestran diferencias significativas entre grupos de restricción en cada semana de gestación. a, b, c, d: $p < 0,05$.



En las conejas sacrificadas el día 28 de gestación, el número total de fetos extraídos fue de 18, 26, 22 y 27 en los grupos control, R07, R721 y R021, respectivamente. A la vista de estos resultados se puede decir que las conejas que estaban restringidas la primera semana de gestación (R07 y R021) priorizaron la implantación de embriones ya que la media de fetos extraídos el día 28 de gestación fue de $13,0 \pm 0,8$ y $13,5 \pm 0,8$, respectivamente, medias sensiblemente mejores a las de los animales control y R721 ($9,0 \pm 0,8$ y $11,0 \pm 0,8$). De todos es conocido que la escasez de alimento al principio de la gestación podría inducir en las hembras la necesidad de mantener la supervivencia de la especie aumentando el número de implantaciones en ellas (Darwin, 1859). En las semanas posteriores, las R07 recibieron suficiente alimento y, de hecho, tuvieron un consumo incluso mayor que las controles (Figura 1; $212 \pm 6,1$ vs $257 \pm 6,2$ g/d; $P < 0,05$). Esto determinó un crecimiento compensatorio de fetos y placentas (Tabla 1) que en general pesaron más que en el resto de los grupos, tal y como ha descrito Santacreu (2006). Las R721 que estuvieron restringidas en la 2ª y 3ª semana de gestación presentaron los peores resultados en cuanto peso placentario, sin embargo su eficiencia fue similar a la de las controles. Por su parte, las que estuvieron más tiempo restringidas (R021) tuvieron que esperar hasta el día 21 de gestación para tener acceso *ad libitum* al alimento, pero sus placentas fetales no se vieron afectadas y pudieron compensar la restricción sufrida en semanas previas presentando una eficiencia similar a la de las conejas que sólo habían estado restringidas una semana (Tabla 1). En ese grupo, la



zona del laberinto (placenta fetal) fue bastante pesada y ésta es la que presenta una mayor vascularización, favoreciendo de este modo el intercambio de nutrientes y aumentando el tamaño del feto (Argente *et al.*, 2003).

Tabla 1. Pesos de fetos y placentas a los 28 días de gestación de conejas (n=8) con alimentación restringida.

	Restricción					P>f
	Control	R07	R721	R021	RMS	
Nº de fetos	18	26	22	27		
Peso feto (g)	39,22	42,86	38,09	38,87	1,872	0,0596
Peso placenta entera (g)	4,68 ^b	6,35 ^a	4,52 ^b	5,59 ^b	0,380	0,0022
Peso placenta fetal (g)	2,71 ^b	4,70 ^a	3,18 ^b	4,22 ^a	0,310	0,0023
Peso placenta materna (g)	1,43 ^{ab}	1,51 ^a	1,06 ^b	1,35 ^{ab}	0,130	0,0018
Ratio peso feto/peso placenta	8,00 ^a	6,94 ^b	8,34 ^a	7,41 ^b	0,241	0,0009

R07: restricción 0-7 días, R721: restricción 7-21 días, R021: restricción de 0-21 días. RMS: cuadrado medio del error.

En relación a los resultados productivos, la fertilidad fue elevada con un valor mínimo de 77,42% en el grupo R021 y máximo de 90% en el grupo R721. El número de nacidos vivos y muertos fue similar entre grupos, siendo de media $10,75 \pm 0,28$ y $0,30 \pm 0,24$, respectivamente ($p > 0,05$). El peso de los gazapos al nacimiento fue de media $56,45 \pm 1,14$ g ($p > 0,05$). Nafeaa *et al.*, (2011), tampoco observan efectos adversos utilizando una restricción del 40% similar a la de este estudio cuando es aplicada en la primera mitad de la gestación.

CONCLUSIONES

Como conclusiones preliminares, se ha podido observar cómo la coneja recurre a un consumo compensatorio tras una restricción del mismo de un 40% en distintas fases de la gestación. Se observa un mayor número de fetos por coneja cuando se restringe el alimento al principio de la gestación, y la fertilidad así como la prolificidad tampoco se ven afectadas por la limitación de alimento durante toda la gestación, pero debemos confirmar empleando más animales si esta práctica no afectará negativamente al desarrollo fetal, ya que parece que la eficiencia placentaria no se ve muy deteriorada. Por lo tanto, de acuerdo los resultados preliminares obtenidos, en principio, podría ser recomendable efectuar la restricción de alimento en gestación, teniendo en cuenta que los resultados de parámetros productivos al parto son similares al grupo alimentado *ad libitum*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822 y la Comunidad de Madrid (S2013/ABI-2913).

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, J.A., Henck, J.W. 1994. Fetal development. En: Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE, editors. The biology of the laboratory rabbit. Academic Press. 457pp.
- Argente, M. J., Santacreu, M. A., Climent, A., Blasco, A. 2003. J. Anim. Sci. 8: 1265-1273.
- Charles Darwin, 1859. Ed. John Murray. 502 pp.
- Fortun-Lamonthe. 2006. Anim. Reprod. Sci. 93:1-15.
- López-Tello J., Barbero A., González-Bulnes A., Astiz S., Rodríguez M., Formoso-Rafferty N., Arias-Álvarez, M., Rebollar P.G. 2015. J. Develop. Orig. Health Dis, 6: 454-461.
- Manal, A.F., Tony, M.A., Ezzo, O.H. 2010. Anim. Reprod. Sci. 120: 179-186.
- Nafeaa, A., Ahmed, S.A.E., Fatallah, S. 2011. Vet. Med. Int. 2011. Article ID 839737
- Santacreu, M.A. 2006. En: XXXI Symposium de cunicultura ASESCU. Lorca, Murcia, pp: 229-236.
- Symeon, G.K., Goliomytis, M., Bizelis, I., Papadomichelakis, G., Pagonopoulou, O., Abas, Z., Chadio, S.E. 2015. PloSone, 10, e0118259.
- Rebollar P.G., García-García R.M., Arias-Álvarez M., Millán P., Rey A.I., Rodríguez M., Formoso-Rafferty N., De la Riva S., Masdeu M., Lorenzo P.L., García-Rebollar P. 2014. Anim. Reprod. Sci. 146:202-209.
- Rosell, J.M., Fluvía, M. 2008. Cunicultura, 192, 9-13.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.



EFFECTOS DEL PAGO VERDE DE LA PAC 2020 EN EL SECTOR AGRARIO ESPAÑOL

Castaño, Javier¹; Martínez, Pilar¹.

Tutora: Blanco, María¹.

¹Departamento de Economía Agraria, Estadística y Gestión de Empresas. E.T.S.I Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

castano.ebl@gmail.com, mpilar.martinez@upm.es

RESUMEN

La Política Agraria Común 2015-2020 introduce un nuevo pago, denominado pago verde o *greening*, para compensar a los agricultores por la realización de tres prácticas obligatorias beneficiosas para el clima y el medio ambiente: diversificación de cultivos, mantenimiento de pastos permanentes y superficies de interés ecológico. Este trabajo analiza los efectos de la aplicación de este pago en España a través del estudio en la práctica de diversificación de cultivos. Para ello, utilizamos los datos de superficies de cultivo de 8.500 explotaciones – procedentes de la Red Contable Agraria Nacional (RECAN) y representativas del conjunto nacional – en el ejercicio 2013. El cálculo del Índice de Shannon con el programa GAMS permite estimar la diversidad de cultivos en las explotaciones españolas antes de la reforma de la PAC. Los resultados muestran que el efecto del pago verde en España es limitado, puesto que un gran porcentaje de las explotaciones cumplía con los criterios exigidos para el pago verde antes de la aplicación de la PAC 2015-2020.

Palabras clave: PAC 2020, pago verde, diversificación de cultivos

INTRODUCCION

El pago verde o *greening* es uno de los puntos clave de la Política Agraria Común para el periodo 2015-2020 y tiene como objetivo fundamental fortalecer la figura del medio ambiente dentro de los sistemas agrarios, favoreciendo aquellas prácticas que contribuyan a su conservación, protección y sostenibilidad. El *greening* concede a los agricultores europeos un pago anual por hectárea admisible, siempre y cuando respeten tres prácticas medioambientales: diversificación de cultivos, mantenimiento de pastos permanentes y superficies de interés ecológico.

La definición de este pago fue uno de los mayores focos de discusión y debate en el seno de la Unión Europea durante el proceso de desarrollo de la nueva PAC. Los distintos puntos de vista del Parlamento, Consejo y Comisión, además de los intereses propios de los Estados miembros, hicieron que lo planteado en la primera propuesta legislativa de la Comisión en octubre de 2011 fuese sometido a numerosas modificaciones, provocando el recelo de numerosos expertos en cuanto a la eficacia de estas medidas a la hora de suponer una verdadera contribución al medioambiente y a su sostenibilidad.

Diversos autores han analizado el impacto del pago verde en el sector agrícola de distintos Estados Miembros de la Unión Europea. Vanni y Cardillo (2013) muestran que el impacto del pago verde en Italia es reducido, debido a que el porcentaje de explotaciones afectadas es muy limitado como consecuencia de los límites establecidos. Wąs et al. (2014) concluyen que la mayoría de las explotaciones en Polonia (77%) ya cumplen con los criterios del pago verde. En el caso de España, no hemos encontrado estudios que estimen el efecto de la aplicación del pago verde.

Con el fin de contribuir al análisis del impacto del pago verde en la agricultura española, nuestro trabajo estudia los efectos de la aplicación de la práctica de diversificación de cultivos en las explotaciones españolas antes de la implementación de la nueva reforma.



PRÁCTICAS DE PAGO VERDE O *GREENING*

Para poder beneficiarse del pago verde, el Reglamento (UE) 1307/2013 establece que los agricultores europeos deben obligatoriamente respetar en todas sus hectáreas admisibles las tres prácticas respetuosas con el clima y el medio ambiente citadas anteriormente, las cuales completan las medidas de condicionalidad impuestas por la PAC (Art. 44 al 46 del Reglamento):

Diversificación de cultivos: aquellas explotaciones que tengan más de 10 hectáreas deberán cultivar al menos dos cultivos diferentes, mientras que aquellas que superen las 30 hectáreas deberán tener al menos tres. Tanto en unas como en otras, el cultivo principal no podrá ocupar más del 75% de la superficie de la explotación, mientras que en el segundo caso, los dos cultivos principales no podrán superar el 95% de la misma.

Mantenimiento de pastos permanentes: Los agricultores podrán convertir en superficie de cultivo como máximo el 5% de las superficies dedicadas a pastos permanentes, teniendo como referencia las superficies dedicadas a tal fin en 2015. En caso de incumplir esa norma (es decir, si el ratio entre pastos permanentes y superficie agraria disminuye más del 5%), ya sea a nivel nacional, regional, comarcal o de explotación (en función de lo elegido), los Estados miembros obligarán a los agricultores a reconvertir esas tierras cultivadas en pastos permanentes hasta recuperar ese umbral del 5%. En zonas especialmente sensibles ambientalmente (aquellas contempladas en las Directivas Europeas 92/43/CEE (hábitats) y 2009/147/CE (aves silvestres) y aquellas que establezcan los Estados miembros) está prohibido hacer dicha transformación. En el caso de España se decidió hacer el cálculo del 5% a nivel nacional.

Superficies de interés ecológico (SIEs): Aquellas explotaciones que superen las 15 hectáreas (no entran en este número las superficies dedicadas a pastos permanentes), deberán tener como mínimo un 5% de su superficie cultivable como superficie de interés ecológico. A partir de 2017 se podrá elevar al 7% esta superficie tras el informe que tendrá que realizar la Comisión en ese año. Estas superficies fueron elegidas por los Estados miembros según sus características agroambientales, optando España por cuatro de ellas: barbecho, cultivos fijadores de nitrógeno, las superficies forestadas dentro de programas de desarrollo rural (PDR) y las superficies dedicadas a la agrosilvicultura (también en el marco de los PDR).

Para tratar de fomentar todavía más una agricultura sostenible y diversificada, el Reglamento recoge en sus normas ciertas exenciones a la hora de realizar estas tres prácticas a los agricultores que, por un caso u otro, ya se encuentren realizando medidas en favor del clima y del medio ambiente. Estarán exentos por tanto de realizar las tres prácticas de *greening* y tendrán derecho automático a recibir el pago verde aquellos agricultores que se encuentren en al menos uno de los siguientes casos: se dediquen a la agricultura ecológica, estén acogidos al Régimen de pequeños agricultores o dispongan de cultivos permanentes.

El Reglamento concede asimismo la exención de las dos prácticas correspondientes a la diversificación de cultivos y el cómputo de SIEs a ciertos tipos de explotaciones que, a pesar de no ser consideradas cumplidoras estrictas de las tres prácticas que promulga la PAC, fomentan sistemas respetuosos con el medio. Estos casos son:

- Explotaciones en las que más del 75% de las tierras de cultivo se utilice para producir hierba u otros forrajes herbáceos, se dejen en barbecho o se dediquen a una combinación de ambos, siempre y cuando no exceda de 30 hectáreas la superficie de cultivo restante.
- Explotaciones en las que más del 75% de la superficie agraria admisible sea utilizada para pastos permanentes, para producir hierba u otros forrajes herbáceos, cultivos



bajo agua o se dediquen a una combinación de todo lo anterior. Asimismo, la superficie de cultivo restante tampoco podrá exceder de 30 hectáreas.

El Reglamento permite la exención de la diversificación de cultivos (es decir, la exención de una sola práctica) en los siguientes casos:

- a. Explotaciones en las que la tierra de cultivo está completamente dedicada a cultivos bajo agua durante una parte significativa de año o del ciclo del cultivo (el arroz).
- b. Explotaciones en las que más del 50% de la tierra de cultivo no hubiese sido declarada el año anterior, y todas las tierras de cultivo al año siguiente se utilicen para cultivos diferentes a los del año anterior (esto se comprobará mediante las imágenes geoespaciales a disposición de las Autoridades competentes).

Por último, los umbrales del 75% para el cultivo principal y del 95% para los dos principales no se aplicarán en las tierras de cultivo cubiertas por hierba u otros forrajes herbáceos (pastos no permanentes) o barbecho. En ese caso, el cultivo principal de la tierra del cultivo restante (el otro 25%), no deberá superar el 75% de la superficie de dicha tierra restante, siempre y cuando no esté cubierta por hierba u otros forrajes herbáceos o barbecho.

METODOLOGÍA

Para analizar el impacto del *greening* en el sector agrario español, se han utilizado los datos de la Red Contable Agraria Nacional (RECAN). La RECAN proporciona datos estructurales e información financiera de alrededor de 8.500 explotaciones españolas consideradas comerciales, es decir, aquellas que tienen una producción total estándar mínima de 8.000 euros, por lo que se trata de una de las fuentes más fiables y representativas de nuestro país para la obtención de datos (representa el 86,5% de la Superficie Agraria Útil española, objetivo principal del análisis de la aplicación de esta medida). Los datos de las explotaciones de la muestra de la RECAN son representativos a nivel de Comunidad Autónoma, orientación técnico-económica y dimensión, por lo que los resultados son extrapolables al resto de explotaciones.

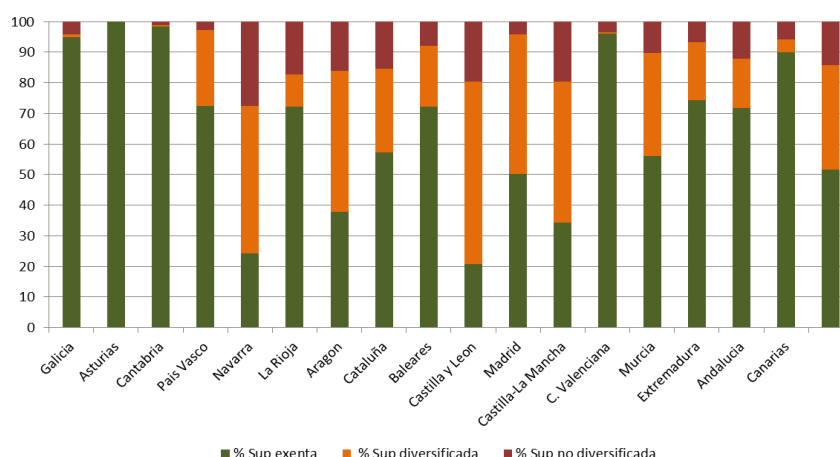
En concreto, hemos empleado los datos de superficie de cultivo de cada explotación de la muestra de la RECAN del ejercicio de 2013. Para el análisis de estos datos hemos utilizado GAMS, un programa de modelización matemática que nos ha permitido establecer los requisitos y umbrales previstos en el Reglamento y calcular el Índice de Shannon (en nuestro caso este índice se ha utilizado para calcular la diversidad de cultivos en las explotaciones españolas antes de la aplicación de la reforma de la PAC). Los datos obtenidos se han extrapolado al total de explotaciones españolas y se han analizado de manera exhaustiva.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los datos de la RECAN del año 2013 muestra que tan sólo el 5,7% de las explotaciones españolas tendrán que redistribuir su superficie de cultivo para la obtención del pago verde en el periodo 2015-2020. Desde el punto de vista de la superficie, es el 12,5% de la superficie agraria útil total la que se verá obligada a diversificar en el mismo periodo.

En cuanto a la distribución por Comunidad Autónoma, se puede observar en la figura 1 como cuatro Comunidades tienen más del 90% de su superficie agraria admisible exenta de la práctica de la diversificación. Si observamos la superficie afectada por la práctica, todas las Comunidades menos Navarra tendrán que diversificar menos de un 20% de sus hectáreas admisibles, suponiendo un 14% de media a nivel nacional.

Figura 1. Superficie agraria admisible afectada por la medida de diversificación de cultivos por CCAA



CONCLUSIONES

Como hemos podido ver en las líneas anteriores, existe un gran número de explotaciones a las cuales se les considera cumplidoras de la práctica de diversificación de cultivos en el primer año de implantación de la nueva PAC (sólo 6 de cada 100 explotaciones tendrán que modificar sus hábitos productivos en favor del medioambiente). El hecho de que se encuentren exentos los cultivos permanentes y las grandes extensiones de forrajes de la realización de esta práctica acota en gran medida la efectividad del nuevo sistema de pagos orientado al beneficio medioambiental. Además, si comparamos la práctica de diversificación descrita en el actual Reglamento con la planteada en la primera propuesta legislativa de la Comisión, la cual contemplaba establecer un único umbral de tamaño (tres hectáreas) a partir del cual las explotaciones debían tener tres cultivos, vemos como la mejora medioambiental prevista para este pago ha quedado en gran medida reducida.

Se puede concluir por tanto que, a pesar de la buena intención que tienen las medidas de *greening* (y más en concreto la práctica de la diversificación) para afrontar el desafío de la sostenibilidad y la pérdida de la biodiversidad en los ecosistemas propios de la agricultura, su eficacia medioambiental se ve afectada por los numerosos umbrales, límites y excepciones incluidos en el Reglamento, los cuales provocarán un cambio mínimo respecto a la situación previa a la nueva PAC del periodo 2015-2020.

BIBLIOGRAFÍA

- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, MAGRAMA (2016). *Pago para prácticas beneficiosas para el medioambiente*. Nota Técnica nº 03 Política Agraria Común 2014-2020. Madrid, Febrero de 2016.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, MAGRAMA [Internet]. Red Contable Agraria Nacional (RECAN) > Metodología [consultado 15 marzo 2016]. Disponible en: [http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/Red_contable_agraria_\(RECAN\)_\(Metodolog%C3%ADa\)_tcm7-201118.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/Red_contable_agraria_(RECAN)_(Metodolog%C3%ADa)_tcm7-201118.pdf)
- Unión Europea. Reglamento (UE) no 1307/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de diciembre de 2013, por el que se establecen normas aplicables a los pagos directos a los agricultores en virtud de los regímenes de ayuda incluidos en el marco de la Política Agrícola Común y por el que se derogan los Reglamentos (CE) no 637/2008 y (CE) no 73/2009 del Consejo. Capítulo 3, art. 43-46.
- Vanni, F. and Cardillo, C. (2013). The effects of CAP greening on Italian agriculture. *PAGRI/IAP Política Agrícola Internazionale*, 3: 7-21.
- Wąs, A., Majewski, E., Czekaj, S. (2014). Impact of "Greening" of Common Agricultural Policy on Polish Farms. *XIVth EAAE Conference* (Ljubljana, Slovenia, 26-29 August, 2014).



LOS RIZOBIOS SE COMUNICAN CON LAS LEGUMINOSAS INYECTÁNDOLES PROTEÍNAS

Bourebaba, Yasmina^{1,2}; Díaz, Ana¹; Salinero, Alvaro¹

Tutores: Rey, Luis¹; Boulila, Farida²

¹Departamento de Biotecnología. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

²Departamento de Microbiología, Facultad de CC de la Natureleza y de la Vida. Universidad de Bejaia, Argelia
yasmina-bio@hotmail.fr; ana.diaz.jimenez@alumnos.upm.es; a.salinero1791@gmail.com

RESUMEN

La simbiosis entre las bacterias llamadas rizobios y las leguminosas tiene una importancia capital en la Agricultura gracias al aporte de nitrógeno atmosférico fijado por los primeros. La simbiosis es habitualmente específica y depende de señales que se intercambian entre los dos actores. Las bacterias responden a compuestos de las leguminosas como flavonoides secretando unos oligosacáridos específicos llamados factores Nod que son reconocidos a su vez por la planta. Si la relación es compatible el rizobio infecta la planta generalmente por pelos radiculares y llega a formar nódulos donde se fija el nitrógeno. Se sabe que los rizobios pueden inyectar proteínas (efectores) a las células vegetales condicionando la simbiosis. En este trabajo presentamos la importancia de sistemas de secreción de proteínas de rizobios que nodulan a los altramuces.

Palabras clave: rizobios, efector, simbiosis

INTRODUCCIÓN

La interacción entre microorganismos beneficiosos y plantas tiene un papel muy relevante en el desarrollo vegetal y en su éxito contra situaciones adversas. En la Agricultura es bien conocido el papel de las bacterias denominadas rizobios por su aporte de nitrógeno a las plantas de la familia *Fabaceae* (*Leguminosae*). Los rizobios son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico, haciéndolo asimilable para la planta, a cambio de una parte de los fotoasimilados (azúcares) elaborados por la leguminosa. Sin embargo el proceso tiene un importante grado de especialización, ya que la interacción es específica entre especies o incluso variedades de leguminosas y determinadas cepas de rizobios. La simbiosis se lleva a cabo en unas estructuras especializadas llamadas nódulos que se desarrollan en las raíces. Entre las características de los rizobios que intervienen en la compatibilidad rizobio-leguminosa se encuentra la secreción de proteínas desde el rizobio a la célula vegetal. Estas proteínas se llaman efectores y su número y naturaleza varía entre los rizobios y su presencia condiciona en muchos casos que se produzca una simbiosis efectiva. Existen varios mecanismos para translocar proteínas, dos de ellos se basan en unas nanoestructuras similares a jeringas y se llaman sistemas de secreción (Deakin y Broughton, 2009).

En este trabajo se presenta un estudio de sistemas de secreción tipo VI (T6SS) identificados en cepas de rizobios, LimcA16 y LmicISLU13 aisladas del altramuces peludo crecido a ambos lados del Mediterráneo, Argelia y España, respectivamente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamiento de cepas

Lupinus micranthus es una especie de planta de la tribu *Genisteae* que se distribuye en toda la zona mediterránea. En este trabajo dos cepas LmicA16 y LmicISLU13 fueron aisladas de nódulos de esta planta recolectadas en el Norte de Argelia y en el Sur-Oeste de España (fig. 1).



Imagen 1. Localización de las zonas de crecimiento de *Lupinus micranthus* de las que se aislaron las cepas utilizadas en este trabajo. (1). *Bradyrhizobium* sp. LmicA16 (Argelia) (2). *B. sp.* LmicISLU13 (España).



Crecimiento de plantas y microorganismos

Las semillas se desinfectaron con lejía al 25% tras sumergirse un minuto en etanol para evitar posibles rizobios del ambiente. Tras lavarse con abundante agua estéril se crecieron en invernadero en hidroponía con solución Leonard (Vincent, 1970) y en condiciones bacteriológicamente controladas.

Los cultivos microbianos de rizobio se incubaron a 28°C en medio YMB (Yeast Mannitol Broth) (Vincent, 1970) y TY (Tryptone Yeast).

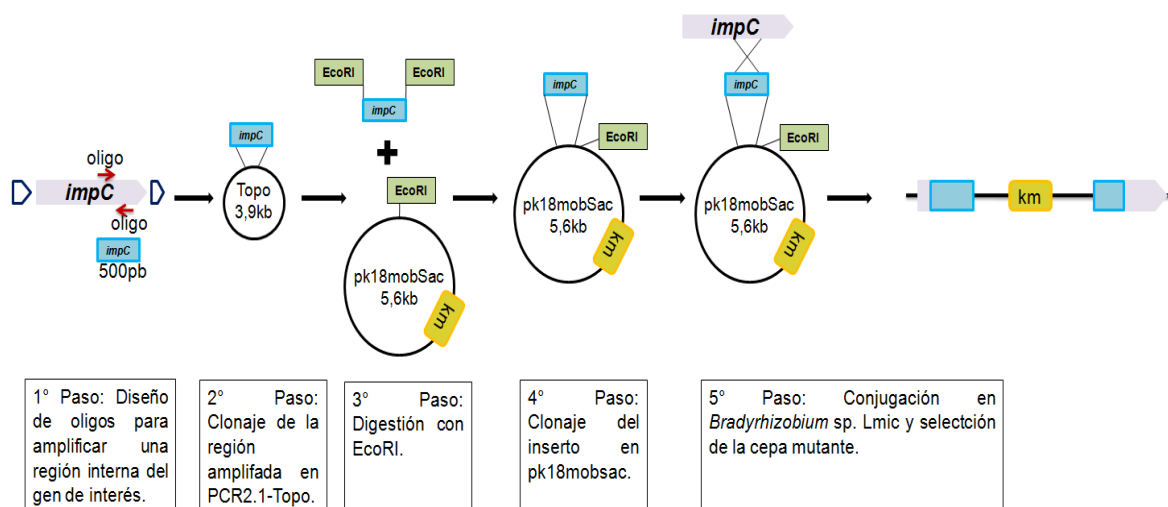
Análisis bioinformático

La identificación de sistemas de secreción en los genomas de las bacterias estudiadas se realizó mediante análisis BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a partir de secuencias reconocidas como pertenecientes a T6SS de varios rizobios de bases de datos.

Construcción de mutantes

La construcción de mutantes se realizó mediante la amplificación de una región interna del gen de interés que se clonó primero en el vector pCR2.1-TOPO y posteriormente en el vector pK18mobSac. La mutación se incorporó al genoma mediante recombinación (Schäfer et al., 1994). El proceso se muestra en la figura 1. Los protocolos de biología molecular se tomaron de Sambrook y Russel., 2001.

Figura 1. Proceso para la obtención de mutantes en genes implicados en la secreción de proteínas por T6SS. En azul se indica un gen seleccionado.





cuáles son los efectores responsables de los efectos observados y esta información será de gran utilidad para conocer mejor la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa y otras simbiosis microorganismos-plantas de gran importancia ecológica.

Tabla 1. Fenotipo simbiótico de la cepa LmicA16 y de dos mutantes en genes del T6SS (*impC* e *impS*) con diferentes plantas.

Leguminosas	A16		A16- <i>impC</i>		A16- <i>impS</i>	
	nod	NF	nod	NF	nod	NF
<i>L. micranthus</i>	+	3.7	+	1.1	+	3.0
<i>L. angustifolius</i>	+	2.9	+	0.3	+	0.2
<i>Spartium junceum</i>	+	3.2	+	0.0	+	4.6
<i>Glycine max</i>	-		-		+	0.0

Nod : Nodulación ; NF : Fijación de Nitrógeno que se determinó mediante el ensayo de reducción de acetileno y se expresa como moles de acetileno reducido x (h x g de nódulos)⁻¹; (+) : Presencia de nódulos ; (-) : Ausencia de nódulos.

CONCLUSIÓN

En este trabajo se ha identificado un sistema de secreción de tipo VI (T6SS) de los rizobios LmicA16 y LmicISLU13 aislados de Argelia y España respectivamente que nodulan *Lupinus micranthus*. Los resultados preliminares obtenidos al inocular varias leguminosas con cepas mutadas en los genes *impC* e *impS*, descritos como relevantes en la función de T6SS, indican que este sistema es importante para una nodulación efectiva con su planta hospedadora y con otras leguminosas.

En estos momentos se desconocen el papel exacto de cada componente de los T6SS en la simbiosis.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Tomás Ruiz-Argüeso por su apoyo y ayuda imprescindibles. A David Durán por su gran capacidad de resolución. A Ana Isabel Bautista por su excelente asistencia técnica.

BIBLIOGRAFÍA

- Deakin W.J. and Broughton W.J. 2009. Nat. Rev. Microbiol., 7: 312-320.
- Sambrook J. and Russell D.W. 2001. Third Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York. Vol. 1: 105-111.
- Schäfer A., Tauch A., Jäger W., Kalinowski J., Thierbach G. and Pühler A. 1994. Gene, 145: 69-73.
- Silverman J.M., Brunet Y.R., Cascales E. and Mougous J.D. 2012. Annu. Rev. Microbiol., 66: 453-472.
- Vincent J.M. 1970. IBP Handbook. Blackwell, Oxford, UK.
- Wu H.Y., Chung P.C., Shih H.W., Wen S.R. and Lai E.M. 2008. J. Bacteriol., 190: 2841-2850.



RECONSTITUTION AND ANALYSIS OF DIACHRONIC LAND USE SERIES: APPLICATION IN BOURDIC'S WATERSHED, FRANCE

Ana González Arnaiz

Tutores: Pérez Hugalde, Carlos¹; Vinatier, Fabrice²

¹Departamento de Economía agraria, Estadística y Gestión de empresas. E.T.S.I. Agrónomos .UPM

²Département d'Environnement et Agronomie. LISAH. INRA Montpellier.

ana.gonzalez.arnaiz.pro@gmail.com

ABSTRACT

The agricultural landscape is a mosaic of elements connected to each other in a dynamic way over time and space. Knowing its evolution helps us extrapolate its future. In this context, the introduction of viticultural mechanization has created underlying disturbances to vineyard plantation models in the Hérault, France. These disturbances, visible from air photographs and satellite images, offer an original case study for quantifying the introduction of an innovation over time and space. For that purpose, a database covering an area of 60 km² was originally created within the 1962-2014 period using the imagery mentioned before. Thereafter, parcel boundaries and land occupations were digitalized. Database analysis has shown abrupt conversion from goblet to trellised vines between 1980 and 1985, as well as an increase in the fallow and urban areas to the detriment of other cultivated surfaces. Socio-economic causes and effects of these changes have been discussed. Following research will be required to obtain deeper analyses and to design an explicit spatial model which shows land use dynamics for the future.

Key words: *land use, digitalization, vineyard*

INTRODUCTION

The comprehension of spatial determinants of evolution of landscapes at fine scale is crucial to help modelling the future of rural areas. Among variety of landscapes encountered, vineyards are excellent case studies as they represent a strong cultural legacy and support an important socioeconomic sector in France (Salome et al., 2014). The opening of remotely sensed data over long time periods, and the constant improvements of photogrammetric and digitalization tools make these studies possible (Grekousis et al., 2016). The study reports land use change at field level over a time period of 50 years using aerial pictures and satellite images. We focused on changes in vineyard configuration during the period 1962-2014 by constituting a fine-scale dataset. Aerial pictures were corrected for radiometric distortions and orthorectified. An object-based digitizing and classification procedure were realised on the corrected dataset. Then, transition matrices were calculated on the constituted dataset to describe driving forces of the system.

MATERIALS AND METHODS

The study area corresponds to the Peyre watershed (76 km²) located in the Languedoc Roussillon, in southern France (43°35'N, 3°19'E).

First, aerial photographs needed to be processed to create georeferenced orthophotos for digitalization purposes. We took as basis an orthophoto of the zone at 20 cm resolution (OT2012) and the resulting digital elevation model (DTM) taken in 2012 from the Systèmes d'Informations Géographiques en Languedoc-Roussillon. Once obtained the corresponding orthophotos for every year of the series, we proceeded with the digitization of parcel boundaries and land uses. Areas of homogeneous shape and texture were separated in polygons using visual interpretation. Then, land uses of each homogeneous polygon were classified according to the Corine Land Cover nomenclature (Burkhard et al., 2012) expanded to a fourth level of detail. The landscape database used for digitalization was

issued from a collection of aerial black and white photographs and colour satellite images acquired by the French National Institute of Geography with different scales (from 1:10 to 1:70 aprox., depending on each air campaign) and with a time interval between 4 and 5 years, ranging from 1962 to 2014.

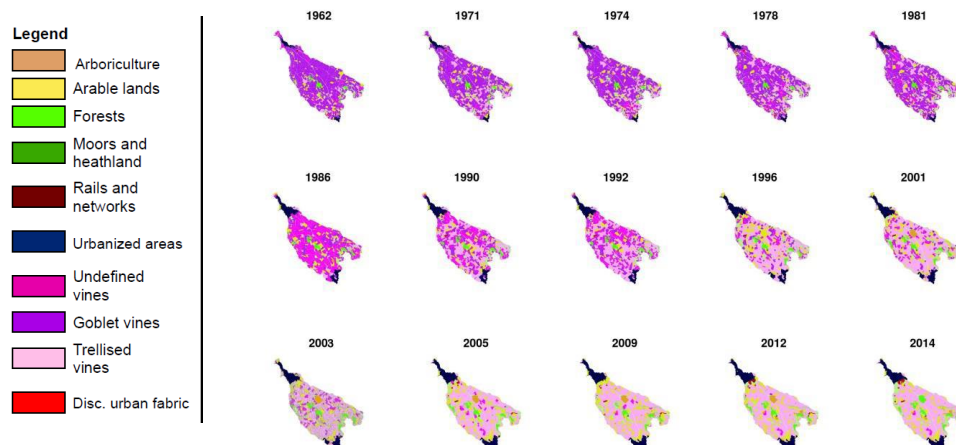
Then, frequencies and transition matrices of each specific land use area were determined for each time period. For each transition rate between time n and $n-1$, we calculated the land use of the fields at time n and land use of their associated overlapping fields for time $n-1$. Values derived from transition matrices expressing gain, losses and swap for each land use category were calculated using a method described by Pontius et al. (2004).

It is worth stressing that the analyses (frequencies and transition matrices) were only conducted in a smaller area within the watershed of the Peyne: the watershed of Bourdic (7 km²). Digitizing was realised using Qgis software. Polygonal shapes were corrected for topological errors with grass. All raster vector conversion, spatial and transition analyses were conducted with the R software.

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 displays the land uses of the study area for each year of the series, which constitutes an overall view of the landscape evolution over time. It also should be noticed that land reparcelling in the years 1970 and 1980 has resulted in the decrease of the number of land plots as a result of grouping those that belonged to the same owners. In addition, the conversion of orchards and perennial crops into open fields promotes the increase of the average area of the plots.

Figure 1. Parcel boundaries and land uses of Bourdic from 1962 to 2014



According to the results obtained, 'Urbanized areas' showed a three-fold increase in its surface from 1962 to 2014. 'Arable lands' category was variable along the series but, overall, it increased 1.4 times its area from the beginning to the end of the series. 'Goblet vines' presented a total decrease of 99.97% from the start to the end of the series. In contrast, the area occupied by 'Trellised vines' was approx. 9 times greater in 2014 than in 1962. However, it should be mentioned that, when considering the sum of the hectares under vineyards (no matter which category of the three) results show a negative vineyard occupation overall over time. Finally, areas occupied by 'Arboriculture', 'Forests' and 'Moors and heathland' were 87, 1.5 and 0.57 times greater (respectively) at the end of the series than in 1962.

According to Figure 2, the most important transition occurred during the period 1980-1990, was the brutal conversion of goblet vineyards to undefined vineyards, then to trellised



vineyards. In the same period, a constant proportion of vineyards were transformed into arable lands and urbanized areas.

Figure 2. Transition dynamics between the different categories (left) and Chord Diagram of this evolution (right)

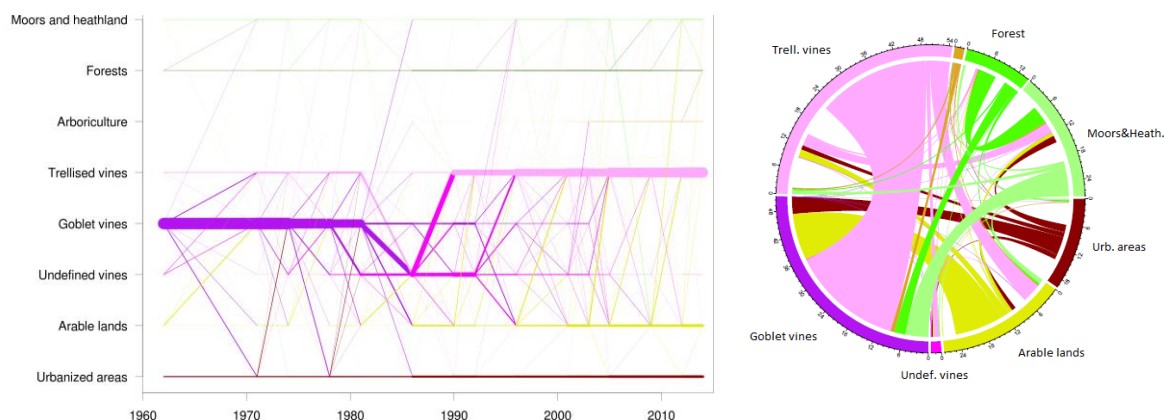


Table 1 expresses the change values for each land use category in Bourdic's watershed from 1962 to 2014: the total change represented 88.8% of the study area whereas only 11.2% of the landscape has rested without change in its land use. If we look at the 'Gross loss' column, the category showing the largest gross loss is 'Goblet vines', which lost 73.2% of the original area in 1962. In contrast, 'Trellised vines' and 'Arable lands' gained 53.3% and 14.1% of the total surface, respectively. The diagonal entries indicate the total amount of persistence. The swap, expressing the change in location of a given land use category while the quantity of this land use remains the same, was the most important change for 'Arable lands' and 'Moors and heathland' categories.

Furthermore, Table 1 also allows us to know, given a category gaining some surface, from which other it takes it, and the opposite with losses. The diagonal entries indicate the total amount of persistence. In this context, 'Trellised vines', 'Arable lands', 'Urbanized areas' and 'Moors and heathland', among others, gain 46.8%, 11.3%, 4.7% and 4.3% of the total surface, respectively, at the expense of 'Goblet vines'. Moreover, 'Trellised vines' gains 2.3% of the landscape at the expense of 'Undefined vines' and 3.6% at the expense of 'Arable lands'. The other categories may be read in a similar manner.

Table 1. Cross tabulation matrix according to Pontius et al. applied to our own data

1962	D.U.F.	2014								Total 1962	Gross Loss
		Urb. area	Arable Lands	Und. vines	Goblet vines	Trell. vines	Arbor.	Forest	M&H		
D.U.F.	0,07	0,29	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,38	0,31
Urb.areas	0,02	2,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,65	0,02
Arab.Land	0,04	0,60	1,54	0,15	0,02	3,55	0,06	0,11	0,33	6,40	4,86
Und.Vines	0,05	1,22	1,35	0,00	0,00	2,34	0,07	0,01	0,12	5,16	5,16
Gob.Vines	1,31	4,66	11,29	0,85	0,00	46,8	1,41	2,58	4,30	73,2	73,19
Trell.Vines	0,00	0,49	1,03	0,00	0,00	3,68	0,23	0,14	0,15	5,72	2,04
Arboricult.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02	0,00
Forest	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	2,09	0,26	2,46	0,37
M&H	0,02	0,40	0,41	0,00	0,00	0,60	0,15	1,26	1,16	4,00	2,84
Total 2014	1,51	10,37	15,63	1,00	0,02	57,0	1,94	6,20	6,32	100	88,8
Gross Gain	1,44	7,74	14,09	1,00	0,02	53,3	1,92	4,11	5,16	88,8	

D.U.F. - Discontinuous Urban Fabric ; M&H - Moors and Heathland



One of the most significant results of the transition matrix is the sudden conversion occurred during the 80's (transition from goblet vines towards trellised vines). This transition coincides with the arrival of mechanisation in viticulture in the Hérault. The category 'Undefined vines' corresponds to the passage from goblet to trellised vines.

The decrease in vineyards of our study area confirms the overall trend in the region and the consequences of the crisis in the country. In the early 1980s, the Languedoc vineyards underwent a deep crisis: a table wine mass production (Touzard & Laporte, 1998), a declining demand for table wines in France, an increase in competition and the integration into the international market, but also the development of the regional economy, that caused a reduction in the economic and demographic weight of viticulture in favour of other land uses (CEP, 2013). In this context, the bonus for the permanent abandonment of wine-growing, a European structural measure designed to reduce the potential of community production (Viticole, 2005), became very important.

Urban dynamics play an important role around the outskirts of urban areas, strengthening the uprooting dynamic (Abrantes et al., 2010). The clear growth observed over time in urban areas is partly explained by the "contagion": urbanization occurs around the city centre, in order to minimize the costs of networks (Cheylan, 2001).

Finally, the development of fallow areas reflects the lack of agricultural opportunities in many territories (Cheylan, 2001). The category 'Forest' presents new plots from goblet vines conversions during the eighties. This event may be due to the inability to replace the vine with other crops.

CONCLUSIONS

The reach of access facilities to multitemporal remotely sensed data helped researchers gaining more insights into subtle land use evolution. By analyzing a fifty years period on a large watershed at field level, we were able to produce a framework for analyzing and detecting these changes. The analysis helped us explain the brutal conversion of vineyards and the progressive spread of urban areas.

ACKNOWLEDGEMENTS

Author thanks tutors for their dedication and advice. This study is part of two projects: ALMIRA and Laccave.

BIBLIOGRAPHY

- Abrantes P., Soulard C., Jarrige F., Laurens, L. 2010. Dynamiques urbaines et mutations des espaces agricoles en Languedoc-Roussillon (France). *Cybergeog: European Journal of Geography* (online). Espace, Société, Territoire. Doc. 485, puesto en línea el 13/01/2010. URL: <http://cybergeog.revues.org/index22869.html>
- Burkhard B., Kroll F., Nedkov S., Müller, F. 2012. Mapping ecosystem service supply, demand and budgets. *Ecological Indicators*, 21: 17–29.
- Centre d'Etudes et de Prospectives. 2013. Perspectives d'évolution de la filière vitivinicole dans la région Languedoc-Roussillon à l'horizon 2025. Les publications du service de la statistique et de la prospective, 55, 4pp.
- Cheyland J.-P. 2001. Evolution de l'occupation des sols en hautes garrigues viticoles et périurbaines de l'Hérault. In *Colloque international CNRS, Dynamique rurale, environnement et stratégies spatiales*. Université Montpellier III. pp. 481–491.
- Grekousis G., Mountrakis G., Kavouras, M. 2016. Linking MODIS-derived forest and cropland land cover 2011 estimations to socioeconomic and environmental indicators for the European Union's 28 countries. *Giscience & Remote Sensing*, 53(1): 122–146.
- Pontius Jr. R. G., Shusas E., McEachern M. 2004. Detecting important categorical land changes while accounting for persistence. *Agriculture, Ecosystems&Environment*, 101(2–3): 251–268.



IMPROVING THE GENETIC PROGRAM FOR THE PIRENAICA BOVINE BREED

Chueca Prado, Leyre; Morientes Lavín, Martaa

Tutors: Alenda, Rafael; López-Paredes, Javier

Departamento de Producción animal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid
leyrechuecap@alumnos.upm.es; marta.morientes.lavin@alumnos.upm.es

SUMMARY

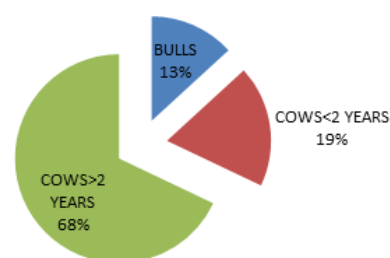
The increasing food demands of our growing population is becoming a worldwide problem. As a result, we must improve and apply our knowledge to optimize production methods. The Pirenaica bovine breed, which is native to Spain and recognized since the nineteenth century, bases its current program on performance control models from the 1980s, whose aim was to improve meat characteristics. How do these programs work? What sort of data is needed? Should they use meat or functional characteristics? Could they be more efficient? This study demonstrates the need of including information related to animal functionality in the genetics improvement program to achieve suitable meat properties and therefore enhance this mountain breed's quality.

Key words: *pirenaica breed, profits, efficiency*

INTRODUCTION

The Pirenaic breed is native to the Aezkoa Valley, Navarra. Thanks to its ease to adapt to the environment and its meat quality, this breed is quite successful. It is supervised by Asociación de Criadores de Ganado Vacuno Pirenaico de Navarra (ASPINA), the Junta General del Valle de Aézkoa and the Confederación Nacional de Asociaciones de Ganado Pirenaico (CONASPI). Currently, the objective is to produce high quality meat, achieved by establishing a constant information flow between the cattle breeder and the customer. This was why the Genealogy book was created in 1905, which gathers data on every animal (birth date, crossings, etc.). However, it was not until 1975 that improvements were made to the breed. Thanks to the huge amount of data collected (more than 35000 registers) the breed's meat potential was recognized.

Graph 1. Census from Genealogy book, CONASPI, 31 December



ACTUAL REQUIRED DATA

The actual control performance was organized in the 80s adding slaughterhouse data since ten years ago. The performance control allows us to know the next average productive values:

- Calving weight: 42-43 kg
- Weaning weight: 250-300 kg
- Daily average increase: 1.60 kg/day
- Conversion rate: 4.1 kg/kg
- Slaughter live weight: 555 kg
- Carcass composition: Meat: 75.1%, fat: 8.4%, bone: 16.4%
- Carcass conformation: U-2



- Carcass colour (1=light pink, 15=dark red): 4.83
- Greasing status (1=not greasy, 15=too greasy): 4.65
- Fat distribution (1=irregular, 5=uniform): 4.25
- Fat consistency (1=hard, 9=oily): 2.75
- Meat quality: pH: 5.44, colour: 5.42, water holding capacity: 22,73%

Genetic evaluations are processed based on the next characteristics:

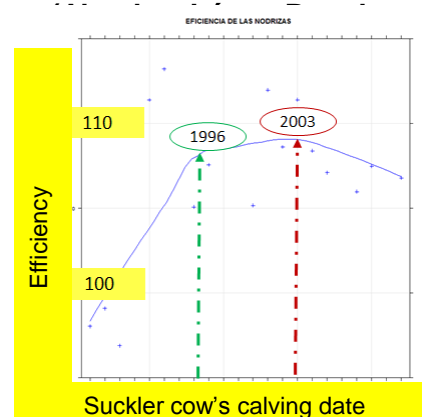
- Calving frequency
- Calving interval
- Weaning calves viability
- Meat production potential
- Calves' growth
- Calves' slit opening
- Milk production
- Growth speed
- Slaughtered weight
- Environment adaptation

Previous data were gathered, analysed and evaluated once a year to obtain animal genetic rates (through BLUP methodology: Best Linear Unbiased Predictor). These values define which characteristics an animal inherits from its parents, and which individuals have the best rates. A growth increase is negatively related to functional capabilities. To sum up, reports must be written with all the available information and spread among associations and cattle breeders.

From the beginning of this program, the problem was deficient and, several times, erroneous. In addition, this method just made the functional traits worse and decreased the cattle farm's efficiency.

This efficiency is calculated by the earnings and production costs quotient. The growth trait improvement enabled an efficiency increase of cows born until 2003-2006, as shown in Figure 3. However, cows born from 2006 on have a decreasing efficiency value due to the worsening of functional traits related to productivity.

Diagram 3. Suckler cows' efficiency evolution.



NECESSARY DATA FOR RELIABLE IMPROVEMENT

To know if a cattle farm should be improved, mistakes and limitations must be known. The best way to accomplish this issue is to know the influential factors that affect the margin for every calf sold (CS). In this way, it should reduce costs which include diet, fertility, mortality and increase income coming from slaughtered cattle and calves.

Calf sold
margin

$$\frac{\text{Incomes}}{\text{CS}} - \frac{\text{Feed cost}}{\text{CS}} - \frac{\text{Pre-weaning cost} + \text{post-weaning} - \text{slaughtered cattle sold}}{\text{CS}}$$



To improve this margin we need to control the following parameters:

- | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • First calving's age, calving interval that raise the number of calves sold • Calving ease • Weaning and suckler cow consumption • Longevity • Mortality (survival) in every period | Maternal's traits | <ul style="list-style-type: none"> • Mortality • Growth • Slaughtered cattle value • Slit opened weight • Conformation • Greasing • Slaughtered cattle age | Meat's traits |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|

It can be seen in table 1 a farm's real comparative analysis where five dams with calvings from 2010 to 2014 have been chosen, aiming to obtain a classification regarding to every animal' efficiency. This efficiency is related to profitability, which includes calves' slit open growth, conformation and slit open weight average values, e.g. a 127 efficiency value means that earns lead costs by 27%. If we compare dams 1 and 5 it is obvious that animal's slit open growth and weight are higher for dam 5. However, this one had less calves and therefore its efficiency decreases due to an extra expense to manage a high slit open weight and not recovering it either calves' sale. In this way, the importance of the negative link between growth and functional traits is confirmed, and so efficiency is affected. In case this tracking is applied to every animal in the farm, the owner will be able to know which are the best ones (1, 2 and 3) for replacement to get better offspring, and the ones (4 and 5) to cross with terminal males to obtain slaughtering calves.

Table 1. Meat production efficiency (Efficiency selection)

(Alenda and López-Paredes, 2016).

DAMS	BIRTH C.	C. G.	CONF.	C. W. (kg)	SACRIFICED CALVES	C. AGE (months)	C. I. (days)	C.	L. C.	E.	E. P.
1	2000	0.94	U	333	4	35	375	10	2012	127	85
2	2003	0.94	U	339	5	30	427	7	2012	120	66
3	1998	0.94	U-	323	4	30	367	12	2011	119	63
4	2005	0.94	R+	334	2	33	489	4	2013	115	45
5	2007	0.96	U	366	1	47	519	2	2012	110	30

Birth C.: Birth calving dates
 C. G.: Carcass growth
 Conf.: Conformation
 C.W.: Carcass weight
 1. C. age: First calving age
 C. I.: Calving interval
 C.: Calving
 L. C.: Last calving
 E.: Efficiency value
 E. P.: Efficiency percent

HOW TO IMPROVE

- More information, increasing reliability: including pure breeds in CONASPI or crossed breeds (other breeds), and even from their own cattle farms
- Evaluate phenotype and genotype maternal and meat flairs
- Improve functional traits which reduce costs
- Decrease first calving's age and calving interval to reduce unproductive period.
- Select by efficiency



CONCLUSIONS

It is important to generate information with which the cattle breeder can be able to know his weaknesses and strengths and can improve his profitability. To do so there must be a flow of information between stockbreeders, cattle farms, associations, pure breeds, dairy cattle and artificial insemination centers. The cattle breeder will collect this information and will send it to a data storage, livestock organization, in which the use, the nutrition, genetics and health will be studied in technical investigation institutes. Finally, all the information will be carried back to the cattle breeder as a report for the improvement of the profitability of the farm. Only the dissemination of this basic knowledge can promote and carry out the program of genetics improvement of the Pirenaic breed, choosing a final, meat or maternal rate to ameliorate functional traits; raising the number and geographic extension of the data required, informing the cattle breeder and the consumer. With a system that presents real data and functional capabilities, the performance of the farm can be considerably incremented.

BIBLIOGRAPHY

- Piedrafita Arilla, J. (2010). Mejora del ganado vacuno de carne. Parámetros productivos. Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Master de Mejora Genética y Biotecnología de la Reproducción, Valencia. [On line] <http://www.mastergr.upv.es/Asignaturas/Apuntes/10.%20Programas/Piedrafita.pdf>. Accessed 15-3-2016.
- CONASPI. (2011). Programa de mejora de la raza bovina Pirenaica. Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, Universidad de Zaragoza, Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. [On line] <http://www.conaspi.es/verdocumento.asp?iddoc=5519>. Pp. 1-40. Accessed: ?
- CONASPI. (2014) Anuario de actividad. Ministerio de agricultura, alimentación y medioambiente. [On line] <http://www.conaspi.es/verdocumento.asp?iddoc=6735>. Pp 8. Accessed 28-3-2016.
- Alenda, R.; López-Paredes, J. (2015). Mejora Vacuno de carne ABEREKIN. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Agroalimentaria y de Biosistemas,



DETECCIÓN DE VARIABILIDAD MACROSCÓPICA DE *Fusarium proliferatum* MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN

Gálvez Patón, Laura¹

Tutores: Elorza Barreiro, Pilar²; Palmero Llamas, Daniel¹

¹Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I.A.A.B. Universidad Politécnica de Madrid

²Departamento de Ingeniería Agroforestal. E.T.S.I.A.A.B. Universidad Politécnica de Madrid
laura.galvez@upm.es

RESUMEN

Fusarium proliferatum es un hongo fitopatógeno relevante por su capacidad de producir micotoxinas y del que existe poca información acerca de su variabilidad intraespecífica. Las características macroscópicas de sus colonias pueden ser utilizadas para caracterizar dicha variabilidad de una forma rápida y rutinaria. En este trabajo, se propone una metodología para poner a punto una técnica que permita diferenciar aislados de *F. proliferatum* en base a sus características morfológicas y cromáticas mediante el uso de técnicas de análisis de imagen. Se ha realizado la siembra de 27 aislados de *F. proliferatum* sobre placas Petri con medio de cultivo, incubadas a 25°C, donde se realizaban capturas de imagen periódicas. Las imágenes fueron analizadas con el programa MATLAB con el uso de rutinas típicas y propias. Los resultados muestran que el análisis de imagen es una técnica idónea para la obtención de las tasa de crecimiento micelial y parámetros cromáticos de una forma automática y rutinaria, lo que permite caracterizar los distintos aislados de *F. proliferatum* en base a estos parámetros.

Palabras clave: análisis de imagen, crecimiento micelial, variabilidad

INTRODUCCION

Fusarium proliferatum (Matsushima) Nirenberg es un hongo polífago, patógeno que puede afectar a cultivos de diversas plantas de interés agroalimentario. Además de por su patogenicidad, este hongo destaca por su capacidad para producir micotoxinas que pueden acumularse en los productos cosechados convirtiéndose en una potencial fuente de riesgo para la salud humana debido a su carácter carcinógeno (Desjardins, 2006).

El estudio del grado de variabilidad es muy importante, puesto que influye de manera muy importante en la respuesta que tendrá una especie frente a tratamientos de control. Aunque existe poca información disponible sobre la variabilidad intraespecífica de *F. proliferatum* a nivel fenotípico, metabólico y genético, algunos estudios subrayan la gran variabilidad intraespecífica de esta especie atendiendo a los análisis filogenéticos; a su potencial como productor de micotoxinas o a su tasa de crecimiento (Jurado et al., 2010; Stępień et al., 2011; Palacios et al., 2015). Sin embargo, no existen estudios sobre la variabilidad en las características morfológicas macroscópicas de sus colonias, debido en parte a la gran dificultad de caracterizar dichos ensayos experimentales.

La morfología de las colonias de *F. proliferatum* es muy variable y pueden presentar dos fenotipos: uno de tipo micelial con abundante micelio aéreo de blanco a púrpura-violeta algodonoso y otro de tipo pionnotal con la formación de poco o ningún micelio aéreo con apariencia húmeda y amarillenta (Leslie y Summerell, 2006). Generalmente, los aislados producen pigmentos violetas en el medio agarizado, pero en general esta pigmentación puede variar en intensidad desde incoloro a casi negro-violeta; en algunas cepas, además, se pueden desarrollar esclerocios negro-azulados.

Algunas de las características macroscópicas de las colonias se registran habitualmente de una forma manual. La tasa de crecimiento se obtiene mediante la medición manual de los diámetros de las colonias con ayuda de una regla o de escalímetros digitales. El análisis de imagen podría ser una técnica idónea como alternativa a la medición manual de las colonias fúngicas para la obtención de las tasas de crecimiento micelial de una



forma más fiable y ajustada. Además, el análisis automatizado de las imágenes permite el uso de las fotografías para la extracción de diferentes parámetros cromáticos que permitirían caracterizar los aislados fúngicos de una forma automática y rutinaria. En este trabajo, se propone una metodología para poner a punto una técnica que permita obtener las tasas de crecimiento micelial, así como parámetros cromáticos de diferentes aislados de *F. proliferatum* mediante el uso de técnicas de análisis de imagen.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el desarrollo de este ensayo experimental se han utilizado 27 aislados de *F. proliferatum* procedentes de dientes de ajo con síntomas de podredumbre de diferentes zonas ajeras de España. La siembra de los aislados se realizó sobre placas Petri de 60 mm diámetro con medio de cultivo PDA (Patata Dextrosa Agar, Conda). Se inocularon de tres a cuatro placas por cada aislado, con 2 μ L de una suspensión de conidios a 10^5 conidios/mL en el centro de las placas, las placas fueron selladas con parafilm e incubadas a 25 °C en oscuridad durante 15 días.

Las capturas de las fotografías digitales se realizaron con iluminación natural difusa, con dos modos de exposición diferentes: modo M (manual), donde se elige completamente el ajuste de la exposición, tanto la apertura de diafragma como la velocidad de obturación y modo Av (semiautomático), que permite seleccionar la apertura del diafragma y la cámara establece automática la velocidad de obturación. La captura de las imágenes de las colonias se realizaba junto a una escala de distancias para su posterior calibrado. La captura de las fotografías digitales se realizaron con una cámara fotográfica de tipo reflex Canon EOS 1200D, con objetivo de 50 mm y distancia mínima de enfoque de 50 cm. Las fotografías fueron analizadas mediante el programa informático Matlab R2015b (Mathworks Inc) empleando rutinas específicamente desarrolladas para cada tarea a partir de la librería de análisis de imagen (Image Processing Toolbox™). Para el cálculo de la tasa de crecimiento micelial de forma manual, se midieron dos diámetros perpendiculares de las colonias con un escalímetro digital y se calculó la media; con el método de análisis de imagen las colonias fueron fotografiadas a los 3 y 4 días y se realizaron las siguientes tareas: 1) segmentación automática de la imagen empleando el método de Otsu (maximiza la varianza entre grupos y minimiza la varianza dentro de los grupos); 2) selección manual del área de interés en la imagen en el canal rojo, 3) identificación del objeto en el área de interés y extracción de diferentes propiedades geométricas entre los que destacan el eje mayor, eje menor y diámetro equivalente (valores típicos del análisis de imagen con Matlab), 4) calibración de las medidas mediante la conversión de píxeles a milímetros. En este método se han obtenido las medias entre el eje mayor y menor de la colonia. Para la toma de los parámetros cromáticos, se realizaron la captura de las imágenes a los 7 y 15 días y se registraron los perfiles cromáticos radiales a partir del modelo de color RGB al seleccionar el centro de la colonia en diferentes radios (de 10 hasta 500 píxeles en saltos de 5 píxeles) empleando coordenadas polares (desarrollo propio). De forma automática, se obtuvieron los valores “R” (rojo), “G” (verde) y “B” (azul) para cada radio en un archivo excel.

En el análisis estadístico de datos de la tasa de crecimiento micelial, en primer lugar se realizó una regresión logística binaria que permitió determinar el grado de influencia de las variables “día de incubación del hongo” (tres y cuatro días) y “modo de exposición de la cámara fotográfica” (modo M y modo Av), sobre la frecuencia del reconocimiento correcto de la colonia en la imagen. La variable dependiente es dicotómica: la respuesta 1 es la probabilidad de que la colonia haya sido detectada adecuadamente (respecto al contraste visual) y la respuesta 0 es la probabilidad de que no se detecte adecuadamente la colonia. En segundo lugar, se realizó una regresión lineal con las tasas de crecimiento micelial de los diferentes aislados donde “x” son las tasas de crecimiento micelial obtenidas con el análisis de imagen e “y” son las tasas de crecimiento micelial obtenidas mediante medición con escalímetro. Para el cálculo de los parámetros cromáticos se obtuvieron las coordenadas cromáticas radiales (r, g y b) en los diferentes radios (Image



Anlaysia Toolbox™). Los datos de las coordenadas cromáticas radiales se analizaron mediante el análisis de componentes principales (PCA). En la reducción de las dimensiones se obtuvieron los parámetros más importantes para caracterizar las características cromáticas de las colonias: PC2 (r-b) que determina el tono y PC3 (r+b) que determina la intensidad de color o concentración de pigmentación. Con estas variables se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) que permitió determinar el efecto de los días de incubación del hongo y del aislado sobre el tono y concentración de pigmentación de las colonias. Los datos de los diferentes parámetros obtenidos fueron analizados con el programa estadístico IBM SPSS Stastics (v. 21.0).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la tasas de crecimiento micelial obtenidos con el método de análisis de imagen han permitido determinar el efecto de las variables “día de incubación del hongo” y “modo de exposición de la cámara fotográfica” sobre la correcta detección de las colonias de las imágenes. El análisis regresión de logística binaria muestra que dichas variables presentan un efecto significativo sobre la correcta detección de las colonias ($p < 0.001$). El modo de exposición presenta un mayor efecto ($OR = 25.03$) sobre la correcta detección de las colonias que el día de la captura de la imagen ($OR = 3.8$); el modo M ($\beta = 3.2$) y el día 4 de la captura ($\beta = 1.33$) presentan una mayor frecuencia errónea en el reconocimiento de las colonias en las imágenes. En la Tabla 1 se muestran las diferentes frecuencias de la detección correcta de las colonias seleccionadas en las imágenes. Al examinar dichas frecuencias puede concluirse que con el modo Av (semiautomático) de la cámara fotográfica y tomando la fotografía a los 3 días de incubación del hongo se obtiene un 97.8% de detección correcta de las colonias frente al 68.8% al tomarse las fotografías el día 4 con el mismo modo. El bajo porcentaje en el reconocimiento adecuado de las colonias en las imágenes con el modo M, puede deberse a que las imágenes con este modo de exposición de la cámara fotográfica presentan mayor saturación de luz lo que dificulta el contraste en la segmentación (en modo manual las condiciones de la cámara se mantuvieron constantes). En cuanto a las diferencias según el día de incubación del hongo, a los 4 días de incubación, el hongo en muchos casos, llega casi a alcanzar los bordes de la placa Petri lo que explica la dificultad de discriminación de la colonia con el borde de la placa.

Tabla 1. Resultados de las frecuencias de reconocimiento correcto de las colonias seleccionadas en las imágenes según el día de incubación y modo de exposición.

Variables	Día de incubación		Modo de exposición		Interacción día de incubación x Modo de exposición			
	Tres	Cuatro	M	Av	Tres x M	Tres x Av	Cuatro x M	Cuatro x Av
% Reconocimiento correcto	59.8	40.2	17.6	82.6	25.0	16.7	97.9	68.8

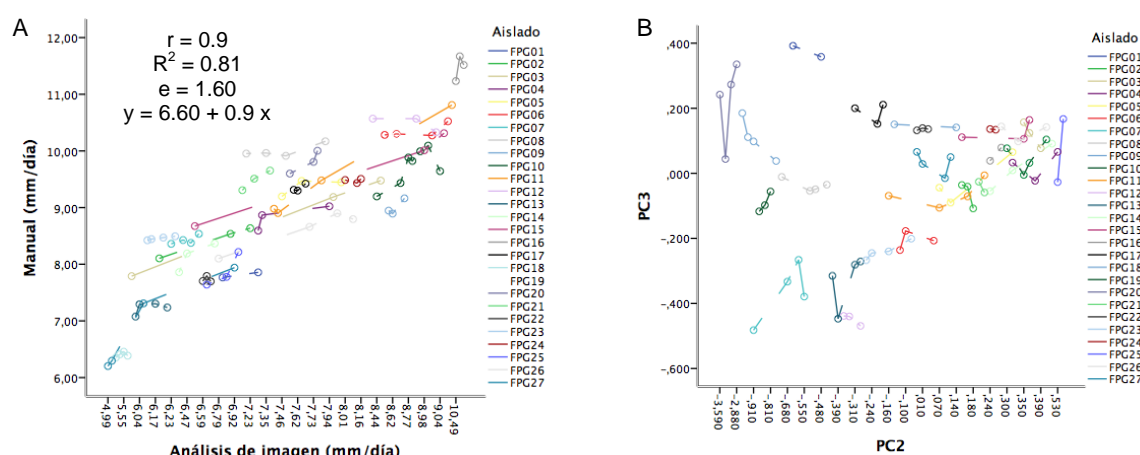
Una vez determinada la influencia del día de incubación del hongo y del modo de la cámara fotográfica, se han tomado los datos de las tasas de crecimiento micelial del modo Av y la incubación a los 3 días para el análisis de regresión lineal que permite relacionarlos con los datos de crecimiento manual. El modelo de regresión lineal de dichos datos ha permitido determinar que la herramienta de medición de diámetros mediante análisis de imagen es válida comparándola con los diámetros obtenidos en la medición manual (Figura 1A). Los datos medios de las tasas de crecimiento micelial (mm/día) y sus desviación típicas han sido 8.98 ± 1.21 y 7.53 ± 1.21 con el método manual y automatizado de análisis de imagen, respectivamente.

Los resultados de la tasas de crecimiento micelial han permitido detectar diferencias entre los aislados de *F. proliferatum* tanto en el método manual como en el análisis



automatizado de imagen. En este sentido, Stepień et al. (2011) citaron diferencias en las tasas de crecimiento entre aislados de *F. proliferatum*, hecho que coincide con nuestros resultados. Estos resultados han permitido establecer que el análisis de imagen es un método adecuado ($R^2=81\%$) para el cálculo de tasas de crecimiento micelial, permitiendo obtenerlas de una forma rápida y fiable.

Figura 1. A. Diagrama de dispersión entre la tasa de crecimiento micelial obtenida de forma manual y la tasa de crecimiento obtenida por análisis de imagen de los diferentes aislados de *F. proliferatum*. B. Diagrama de dispersión entre el PC2 y el PC3 de los diferentes aislados de *F. proliferatum* a los 15 días.



En cuanto a los parámetros cromáticos (r, g y b), el análisis de las coordenadas cromáticas radiales de los diferentes aislados muestran que el perfil cromático rojo permite detectar diferencias entre aislados y entre los días de incubación (7 y 15 días), mientras que los perfiles azul y verde solo permiten detectar diferencias entre aislados. El análisis de varianza de los datos del PC2 indica que tanto el día de incubación del hongo como el aislado presentan un efecto significativo ($p<0.001$ y $p=0.003$, respectivamente) sobre el tono de la colonia fúngica; en el caso del análisis de los datos del PC3, los resultados indican que el aislado presenta un efecto significativo ($p<0.001$) sobre la concentración de pigmentación de la colonia. Los parámetros cromáticos PC2 y PC3 permiten clasificar a los aislados de *F. proliferatum* en diferentes grupos (Figura 1B).

CONCLUSIONES

La técnica del análisis de imagen automatizada desarrollada permite calcular las tasas de crecimiento micelial de hongos de una forma rápida y fiable. Además, esta técnica permite clasificar a los diferentes aislados de *F. proliferatum* a partir de su producción de pigmentos en medio agarizado en base a dos parámetros cromáticos.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento a los profesores Daniel Palmero Llamas del Laboratorio de Protección Vegetal-UPM (RedLab 335) y Pilar Barrerio Elorza del grupo LPF_Tagrafia (UPM) por su dedicación y supervisión. Este trabajo ha sido financiado por Coopaman SCL (P1520290111).

BIBLIOGRAFÍA

- Desjardins A. E. 2006. *Fusarium mycotoxins: chemistry, genetics and biology*. Ed. APS Press. 260 pp.
- Jurado M., Marín P., Callejas C., Moretti A., Vázquez C., González-Jaén M. T. 2010. Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum*. *Food microbiology*, 27(1), 50-57.
- Leslie J. F. & Summerell B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Ed. Blackwell Publishing. 388 pp.
- Palacios S., Susca A., Haidukowski M., Stea, G., Cendoya E., Ramírez M. 2015. Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum* isolated from durum wheat grains in Argentina. *International journal of food microbiology*, 201, 35-41.
- Stepień Ł., Koczyk G., Waśkiewicz A. 2011. Genetic and phenotypic variation of *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. *Journal of applied genetics*, 52 (4), 487-496.



PLAN DE ORDENACIÓN DE LOS PASTOS EN LA DEHESA LOMO PERAL, MONTE DE UTILIDAD PÚBLICA NÚMERO 106 EN PRÁDENA DEL RINCÓN (MADRID)

De la Cruz Martín, Irene

Tutor: Hernández Díaz-Ambrona, Carlos G.

*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid
irene.delacruz.martin@alumnos.upm.es*

RESUMEN

Este trabajo pretende ser la base para la implantación de un Plan de Ordenación de los pastos de la dehesa Lomo Peral, Monte de Utilidad Pública número 106, que se encuentra en el municipio Prádena del Rincón, en la Comunidad de Madrid (CM). A partir de las Instrucciones de Ordenación de Montes de la Comunidad de Madrid (2010), se ha elaborado un análisis de la situación agroforestal actual de la dehesa, su potencial para producir pastos y las posibles salidas al mercado de los productos derivados de su explotación, en este caso ganadería ovina y bovina.

Palabras clave: *agroforestal, desarrollo rural, forrajes, ganadería*

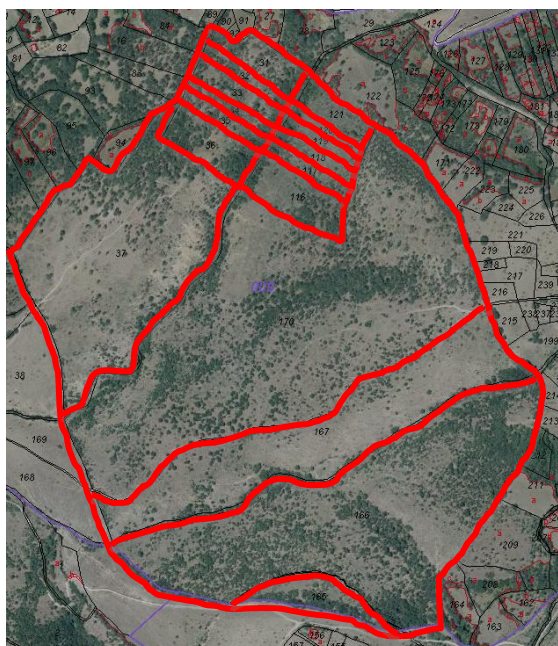
INTRODUCCIÓN

El Plan de Ordenación para la dehesa Lomo Peral surge, por parte del Área de Educación Ambiental de la Dirección de Medio Ambiente de la Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad Autónoma de Madrid, como respuesta a la falta de un Plan de Ordenación, adecuado para llevar a cabo un buen aprovechamiento del monte y para que el pueblo de Prádena del Rincón pueda obtener algún beneficio económico de su explotación.

Hasta ahora no existía ningún proyecto que determinase las actuaciones a realizar en el monte, tales como podas, organización en tiempo y espacio del pastoreo, carga máxima de animales, etc. Aunque en la actualidad si se está haciendo uso de la dehesa por parte de los ganaderos del pueblo. Este aprovechamiento viene determinado únicamente por un Plan Anual de Aprovechamientos, con vigencia de y por un Pliego de Prescripciones técnicas, ambos con una vigencia de cinco años.

LA DEHESA LOMO PERAL

La dehesa Lomo Peral está inscrita como Monte de Utilidad Pública o M.U.P. número 106 de la Comunidad de Madrid (Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid. 2007). Pertenece al Término Municipal de Torrelaguna y a la Comarca Forestal IV de Montejo (Sociedad Española de Ciencias Forestales. 2009). Cuenta con una superficie total de 87 hectáreas, distribuidas en 17 parcelas (Figura 2), de las cuales 78 son forestales, con 10 hectáreas de pastizal y 68 hectáreas de matorral y árboles, y se utiliza principalmente como coto de caza y para pasto.

Figura 2: Vista aérea de la división parcelaria de la dehesa Lomo Peral

Fuente: Adaptado de Goolzoom

La Sierra del Rincón, a la que pertenece el M.U.P. forma parte de distintas figuras de protección, como son Reserva de la Biosfera, Zona Especial de Protección (ZEC), Red Natura 2000, Protección por la Ley 16/1995 del 4 de Mayo y Reserva Nacional de Caza de Sonsaz, debido a sus condiciones naturales, que albergan gran variedad de especies. Se estima que su riqueza, en cuanto a especies vegetales silvestres, comprende 833 especies, de las cuales, 66 son catalogadas como raras, endémicas o amenazadas; en cuanto a animales se estiman 194 especies, de las cuales, 140 son catalogadas como raras, endémicas o amenazadas (Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid. 2007).

Respecto a la flora, los estratos de vegetación que se encuentran son el arbóreo, compuesto por Roble Negro o Melojo (*Quercus pyrenaica*), Fresno (*Fraxinus angustifolia*) y Arce de Montpellier (*Acer monspessulanum*); el estrato arbustivo, compuesto por Rosas (*Rosa sp.*) y Espino Blanco o Majuelo (*Crataegus monogyna*); y por último el estrato herbáceo, compuesto por Trébol (*Trifolium repens.*), Alfalfa (*Medicago sativa*), Veza (*Vicia sativa*), Cervuno (*Nardus stricta*) y Rompesacos (*Aegilops triuncialis*). Atendiendo al interés que la vegetación tiene como base de alimentación del ganado, no solo el estrato herbáceo cumple esta función, sino que las bellotas de los robles y las majoletas, que es el fruto de los espinos, tienen interés, debido a que son comestibles.

Por los alrededores y cruzando la dehesa, se encuentran distintas vías pecuarias: Colada del Lomo del Peral, Cordel de la Cabezada y Descansadero de ganado del Lomo del Peral (CM. 2015a).

La dehesa Lomo Peral se encuentra a una altitud media de 1116 metros (1084-1147 metros). Al estar enclavada en una sierra, su dominio fisiológico es de piedemonte tipo depresión-corredor. Predominan las rampas escalonadas y existen dos gargantas (CM. 2015b), que confieren al terreno unas características propicias para la erosión, además que al albergar las gargantas en su parte más baja un arroyo, los animales al acceder a ellos promueven aún más este fenómeno. A estas características orográficas que propician la erosión hay que sumarle que el suelo carece de horizonte de acumulación de materia orgánica al ser un suelo joven, catalogado según la clasificación USDA como inceptisol y entisol, que están caracterizados por ser suelos poco evolucionados. Así pues, se deduce de estas cualidades que se trata de un suelo no apto para el cultivo.



Respecto a su hidrología, Prádena del Rincón pertenece a la Cuenca Hidrográfica del Tajo y a las subcuencas del Río Jarama según la Comunidad de Madrid y a la del Río Lozoya según el Canal de Isabel II. En los alrededores de la dehesa no se encuentra ningún pantano, embalse o laguna, siendo los más cercanos el Embalse de Puentes Viejas y la laguna de El Samoral. Respecto a los cursos de agua, en los límites de la dehesa existen varios arroyos que desembocan en el Río de la Nava, como son el Arroyo de los Santillos y el Arroyo de la Cabaña.

La Sierra del Rincón presenta un clima de montaña, que se caracteriza por temperaturas muy frías en invierno y suaves en verano (Figura 3). El piso bioclimático al que corresponde es supramediterráneo medio, supratemplado o montano, característico de zonas entre los 500 y 1700 metros, con un piso de vegetación de bosques caducifolios, a veces mixtos con conífera, donde el *Quercus pyrenaica* es un bioindicador (Consejería del Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid. 2001).

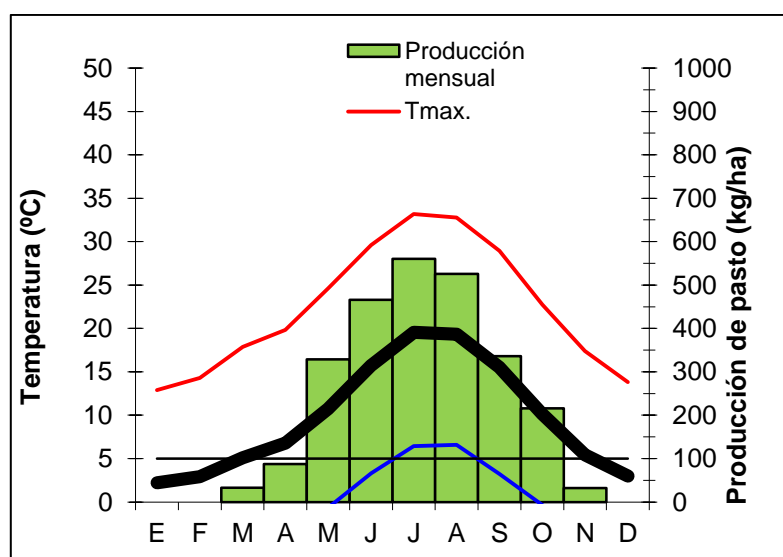
APROVECHAMIENTO GANADERO

Una vez se ha caracterizado la dehesa, hay que valorar y determinar el tipo y raza de ganado que va a pastar, infraestructuras necesarias, la cantidad de pasto que esta produce a lo largo del año, calendario de aprovechamientos, carga ganadera y posibles mercados de productos. Los animales que en este momento están haciendo uso de los pastos son 250 cabezas de vacuno de cruce industrial entre la raza parda alpina y charolés, y por otro lado 200 cabezas de ovino de la raza merina, blanca y negra y churra; equivaliendo entre ambos a 275 unidades de ganado mayor (UGM).

En cuanto a las infraestructuras, la dehesa cuenta con un abrevadero de cemento con un sistema de cisterna que le mantiene con un nivel de agua constante, con una capacidad de 2551 litros. También cuenta con un comedero portátil de metal accesible tanto para el ganado menor como para el mayor.

Para calcular la cantidad de pasto que se produce a lo largo del año es necesario conocer la precipitación media mensual, las temperaturas medias, máximas y mínimas, la evapotranspiración y la radiación solar. Con todos estos datos se obtiene una producción media de 2586 kg de materia seca/ha y año (Figura 3).

Figura 3: Evolución calculada del pasto herbáceo a lo largo del año en la dehesa Lomo Peral



Fuente: Elaboración propia



Como se observa en la Figura 2, los pastos pueden ser aprovechados desde abril hasta noviembre. Teniendo en cuenta la cantidad de pastos y su calidad, que es baja, se pueden alimentar a 1,7 cabezas de vacuno por hectárea y año y a 13 cabezas de ovino por hectárea y año (Daza Andrada. 2014), que corresponderían a 132 y 1014 cabezas de ganado al año respectivamente o a 2750 UGM al año.

Por último, en el plan de ordenación se incluye un estudio sobre las posibles vías de mercado de los productos obtenidos de la explotación de la dehesa. Por un lado tenemos el ganado ovino, del que se obtienen corderos y queso, y por otro lado el ganado bovino, del que se obtienen terneros para cebadero y carne de desvieje. Así pues, una posible vía de venta de los productos sería tiendas y restaurantes locales, con posibilidad de ver como se crían los animales, debido a la cercanía de la dehesa y las explotaciones al pueblo, y como alternativa a aumentar el precio percibido por los productores, se podría buscar la conversión a ganadería ecológica.

CONCLUSIONES

Basándose en los datos anteriormente expuestos, se puede llegar a dos conclusiones.

La primera conclusión es que existe un problema de erosión importante puesto que éste influye de forma directa en la superficie productora de pasto, el cual deberá ser estudiado e incluido en el subprograma de control de procesos erosivos del Plan Forestal de la Comunidad de Madrid 2000-2019.

La segunda conclusión es que la producción anual de pasto de la dehesa, si se considera como único monte apto para el pastoreo del municipio, no es suficiente para abastecer a las 250 cabezas de vacuno censadas en el municipio, por lo que sería interesante elaborar un proyecto de mejora de pastos del monte.

AGRADECIMIENTOS

A Carlos Hernández que es mi tutor (Departamento de Producciones Agrarias), al Área de Educación Ambiental de la Comunidad de Madrid (Dirección General de Medio Ambiente de la Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid) y al director de la Asociación de Ganaderos de Prádena del Rincón Juan Antonio.

BIBLIOGRAFÍA

- CM. 2015^a. "Cartografía Ambiental de la Comunidad de Madrid". [En línea] http://www.madrid.org/cartografia_ambiental/html/visor.htm 03/03/2016
- CM. 2015b. "Inventario de vías pecuarias de la Comunidad de Madrid". [En línea] http://www.viaspecuariasdemadrid.org/images/inventario_nov_2015.pdf 07/10/2015
- Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid. 2002. "La Sierra del Rincón. Hombre y Naturaleza a través del tiempo"
- Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid. 2007. "Catálogo Regional de Especies Amenazadas y Árboles Singulares"
- Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid. 2007. "Montes de Utilidad Pública de la Comunidad de Madrid"
- Daza Andrada, A. Universidad Politécnica de Madrid. 2014. "Apuntes de Producciones Animales II"
- GoolZoom. 2016. [En línea] <http://es.goolzoom.com> 28/02/2016
- Sociedad Española de Ciencias Forestales. 2009. "5º Congreso Forestal Español"



OCURRENCE OF EMERGING CONTAMINANTS IN RICE PLANTS FROM VALENCIA, SPAIN.

Aznar, Ramón ¹

Tutors: Tadeo, José Luis ¹; Vallejo, Antonio ²

¹Departamento de Medio Ambiente, INIA, Carretera de la Coruña, Km. 7, Madrid, Spain.

²Departamento de Química y Tecnología de los Alimentos. Escuela de Ingenieros Agrónomos.

Universidad Politécnica de Madrid.

E-Mail address ¹: aznar.ramon@inia.es

ABSTRACT

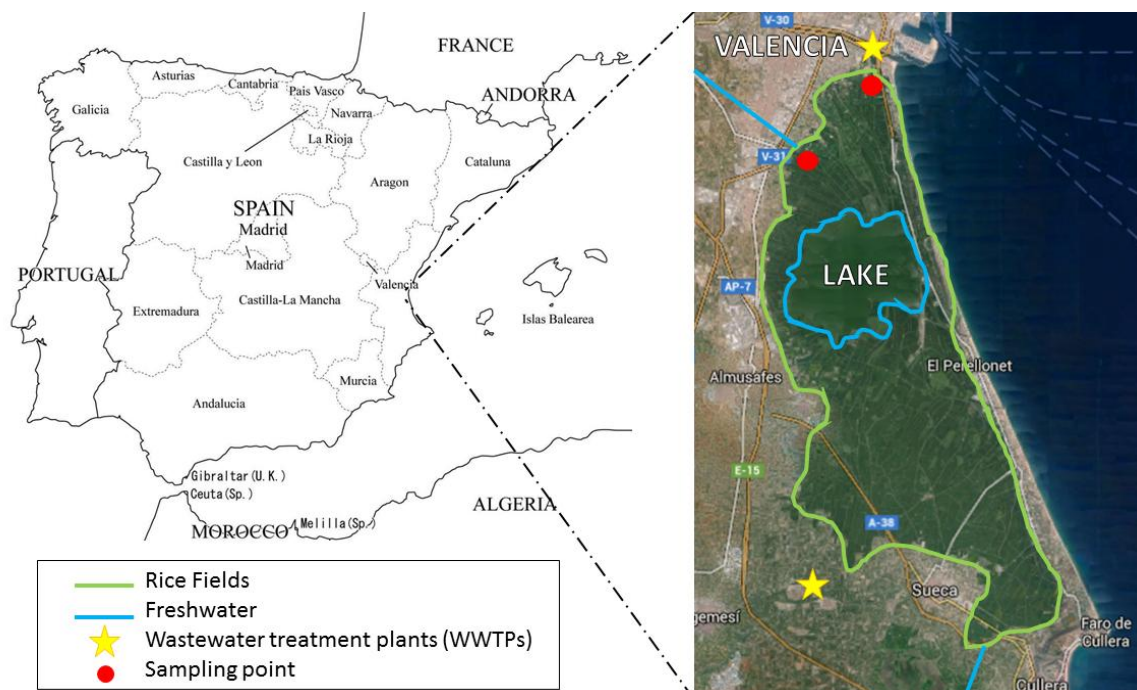
Oryza sativa (rice) needs high amounts of water to be grown properly. In Valencia (Spain) due to the shortage of freshwater from rivers, and the scarcity of rainfall during rice production time have lead the farmers to use wastewater effluents to irrigate agricultural fields to overcome the drought. Consequently, undesirable compounds such as emerging contaminants (ECs) (e.g. pharmaceutical, personal care products, and hormones) may be introduced into the environment or the food chain, with the possible drawbacks to the environment and human health. Thus, this work presents a screening (analyze of rice samples irrigated with water from Turia River and wastewater effluent) that point out the importance of water quality for irrigation. The sample of rice plant that received poor quality water presents higher detection of emerging contaminants (ten of thirty one compounds tested), while the rice irrigated with river water presents only three emerging contaminants present commonly in Spanish rivers.

Keywords: *emerging contaminants, rice plants, uptake*

INTRODUCTION

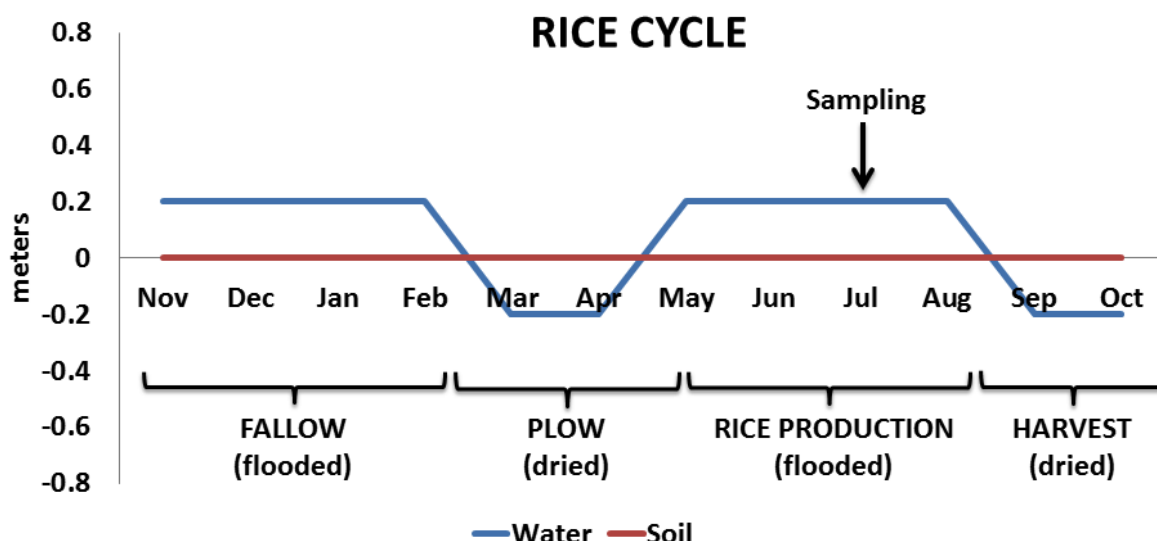
Valencia and specially the Natural Park of Albufera is the most well-known area of rice production (*Oryza sativa*) in Spain, where has been harvested since the 8th century (Fig. 1) (Aznar et al., 2016a).

Figure 1. Location and description of the area of study



Because of the special needs that rice production has, the area has been transformed and adapted over the years, creating a natural park where the 70% of the area is dedicated to produce rice. The hydrology of the park depends completely on the rice cycle production (Fig. 2) (Aznar et al., 2016a).

Figure 2. Hydrological cycle of rice production



But as it is known, the Mediterranean area (Valencia) presents scarcity of freshwater input (rain or Turia and Júcar Rivers) overall in summer time, when rice is produced and the demand of water is higher to keep the fields continuously flooded. To solve this problem, water from an over pumped aquifer or water from a wastewater treatment plants (WWTPs) are used. Unfortunately, as some authors have pointed out, the treatment of this water does not satisfactorily remove all contaminants (Campo et al., 2013; Carmona et al., 2014; Feo et al., 2010; Petrie et al., 2015). Hence the spreading of emerging contaminants, such as pharmaceutical, hormones, personal care products and so on through agricultural soils may take place (Aznar et al., 2014). But what concerns the scientific community is the capability of some edible plants to uptake ECs and translocate them to the root, leaves and fruits (Hurtado et al., 2016; Wu et al., 2015). Consequently, we focus our study in rice plants, which cultivation is under flooded conditions and therefore maybe is more exposed to ECs than other edible plants.

Thus, the aim of this work is to assess the presence of ECs in rice plants irrigated with diverse sources of water (preliminary study).

MATERIAL AND METHODS

Samples of Oryza s. were collected at the Natural Park of Albufera in Valencia Spain from two different areas that present different sources of freshwater to irrigation: Turia River and effluents from the North WWTPs. Plants were maintained in darkness at 4 °C and transported to the laboratory where representative portions of the aerial part were ground using a food processor and kept at -20 °C until analyses.

Method, the analyses to detect 31 emerging compounds of different chemical classes in rice plants were carried out according to the validated method of Aznar and coworkers (2016b). Briefly, the target compounds were extracted from 1 g of blended rice plant using ultrasound assisted extraction and matrix solid phase dispersion in three steps (basic and two acid). Finally, prior chromatography-mass spectrometry detection, a clean up and



derivatization steps were needed to the correct quantification, to eliminate interferences and increase volatility of ECs compounds, respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

The method above mentioned was applied to the rice plants sampled in order to check if the selected 31 emerging contaminants appear and present any variation in rice plants depending on the water source.

Table 1 shows the compounds found in rice plants irrigated with water from Turia River and effluent from the North WWTP. Although only 3 compounds out to 31 were detected in rice plant irrigated with river water, 10 compounds were detected above the limits of detection of the method for rice plant irrigated with wastewater effluent. Hence, it is evident that the use of poor water (wastewater effluent) increases the level of pollutants in rice plants.

Table 1. Emerging contaminants detected in rice plants (ng g^{-1} , wet weight) irrigated with wastewater treatment plant (WWTP) effluents and water from Turia River

Compounds	North WWTP	Turia River	Compounds	North WWTP	Turia River
Methyl Paraben	60.9	n.d.	Carbamazepine	180.1	n.d.
TCEP	n.d.	n.d.	BDE-47	n.d.	n.d.
TCPP	n.d.	n.d.	Fenofibrate	n.d.	n.d.
Ibuprofen	60.0	n.d.	λ -Cyhalothrin	n.d.	n.d.
Propyl Paraben	10.4	14.1	Permethrin	n.d.	n.d.
Methyl Triclosan	n.d.	n.d.	BPA	249.4	25.3
Gemfibrozil	n.d.	n.d.	BDE-100	n.d.	n.d.
Nonylphenol	n.d.	n.d.	Cyfluthrin	12.5	n.d.
Fenoprofen	n.d.	n.d.	Hexestrol	n.d.	n.d.
BP3	11.1	n.d.	α -Cypermethrin	18.3	235.2
Naproxen	n.d.	n.d.	Diethylstilbestrol	n.d.	n.d.
Triclosan	10.2	n.d.	τ -Fluvalinate	n.d.	n.d.
Mefenamic acid	n.d.	n.d.	Estrone	n.d.	n.d.
Ketoprofen	n.d.	n.d.	Esfenvalerate	4.2	n.d.
Bifenthrin	n.d.	n.d.	Deltamethrin	n.d.	n.d.
Fenpropathrin	n.d.	n.d.			

n.d., not detected

WWTP, wastewater treatment plant

TCEP, tris (2-carboxyethyl) phosphine

TCPP, tris (1-chloro-2-propyl) phosphate

BP3, benzophenone-3;

BDE-47, 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether

BPA, bisfenol A

BDE-100, 2,2',4,4',6-pentabromodiphenyl ether

Propyl paraben and BPA found in rice plants may be considered as a proof the presence of these compounds in the Turia River, in accordance with several authors (Carmona et al., 2014; Esteban et al., 2014), who also detected the same compounds in other Spanish rivers. The 235.5 ng g^{-1} of α -cypermethrin detected in the same sample can be explained by the extensive use of this compound in the surrounding area, where it was found also with high concentration in fish tissues taken from the same river (Corcellas et al., 2015).

The compounds detected in the rice plant samples taken near the WWTP are the commonly compounds detected in wastewater effluents such as pharmaceutical (ibuprofen and carbamazepine) and personal care products (triclosan, BP3 and BPA) at concentrations ranging from 10.2 to 249.4 ng g^{-1} of triclosan and BPA, respectively.



CONCLUSIONS

The use of poor water (wastewater effluent) increases the probability of rice plants to uptake emerging contaminants. Thus, water quality should be controlled in order to decrease the presence of ECs into the environment.

Further research need to be done to assess if the ECs detected in rice plant can be translocated and accumulated in rice grains and introduced into the food chain. Moreover, it will be also interesting to monitor the entire area of rice production to get a better understanding of the whole system and assess if rice fields are working as a buffer area decreasing the contamination through the park and improving the quality of water that feeds the Albufera Lake.

ACKNOWLEDGMENT

Authors wish to thank INIA for the predoctoral fellowship (R. Aznar) and Spanish Ministry of Economy and Competitiveness RTA2014-00012-C03-01 for financial support and Beatriz Albero and Consuelo Sánchez-Brunete for their contribution to this work.

REFERENCES

- Aznar R., Moreno-Ramón H., Albero B., Sánchez-Brunete C., Tadeo J.L. 2016a. *J Soils Sediments.*, (Article in Press)
- Aznar R., Albero B., Sanchez-Brunete C., Miguel E., Martín-Girela I., Tadeo J.L. 2016b. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, (Article in Press)
- Aznar R., Sanchez-Brunete C., Albero B., Rodriguez J.A., Tadeo J.L. 2014. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 21: 4772-4782.
- Campo J., Masia A., Blasco C., Pico Y. 2013. *J. Hazard. Mater.*, 263: 146-157.
- Carmona E., Andreu V., Pico Y. 2014. *Sci. Total Environ.*, 484: 53-63.
- Ccancapa A., Masia A., Andreu V., Pico Y. 2016. *Sci. Total Environ.*, 540: 200-210.
- Corcellas C., Eljarrat E., Barcelo D. 2015. *Environ. Int.*, 75: 110-116.
- Esteban S., Gorga M., Petrovic M., Gonzalez-Alonso S., Barcelo D., Valcarcel Y. 2014. *Sci. Total Environ.*, 466: 939-951.
- Feo M.L., Ginebreda A., Eljarrat E., Barcelo D. 2010. *J. Hydrol.*, 393: 156-162.
- Hurtado C., Dominguez C., Perez-Babace L., Canameras N., Comas J., Bayona J.M. 2016. *J. Hazard. Mater.*, 305: 139-48.
- Petrie B., Barden R., Kasprzyk-Hordern B. 2015. *Water Res.*, 72: 3-27.
- Wu X.Q., Dodgen L.K., Conkle J.L., Gan, J. 2015. *Sci. Total Environ.*, 536: 655-666.

SESIÓN C2



ALIMENTOS TRANSGÉNICOS ¿ES CORRECTO Y SUFICIENTEMENTE INFORMATIVO SU ETIQUETADO EN EL MERCADO ESPAÑOL?

Manzanares Palenzuela, Carmen Lorena²

Tutores: Martín Clemente, Juan Pedro¹; López Ruiz, Beatriz²

¹Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal. E.T.S. Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid.

²Sección Departamental de Química Analítica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid
cmanzana@ucm.es

RESUMEN

La pregunta de si estamos siendo correctamente informados sobre lo que consumimos en el caso de alimentos transgénicos, debería ser fácil de responder: sí; ya que la legislación Europea es estricta en este sentido, y exige un etiquetado concreto de aquellos alimentos que contengan más del 0,9% de organismo(s) genéticamente modificado(s). La soja (Glycine max), en su variedad resistente a herbicidas, representa uno de los transgénicos con mayor superficie de cultivo en el mundo, siendo la variedad Round-up Ready (evento GTS40-3-2) una de las más utilizadas en la industria alimentaria. En el presente trabajo, se han analizado 24 muestras de alimentos que contienen soja, adquiridas en el mercado español y en ninguna de ellas se indica en el etiquetado la presencia de transgénicos. La detección de la posible existencia de soja transgénica se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa, amplificando un fragmento específico del genoma de la soja Round-up Ready. Sólo en dos muestras se detectó la presencia de soja transgénica en cantidades ligeramente superiores al límite de etiquetado permitido.

Palabras clave: alimentos transgénicos, PCR, soja Round-up Ready.

INTRODUCCION

La industria agroalimentaria ha alcanzado un alto grado de modernización como resultado de los hábitos de consumo actuales. Si se piensa en el crecimiento exponencial de la población mundial, se calcula que para el año 2050, para satisfacer las necesidades de alimentación de la población al mismo nivel que el actual, las cosechas deberían aumentar en un 100-110% (Tilman et al., 2011). De ahí que la aplicación de la ingeniería genética en la agricultura se considere uno de los avances tecnológicos más importantes de las últimas décadas, habiéndose desarrollado cultivos biotecnológicos que aportan importantes beneficios en la productividad agraria, destacando los cultivos transgénicos, cuyas características más relevantes son la tolerancia a herbicidas y la resistencia a insectos.

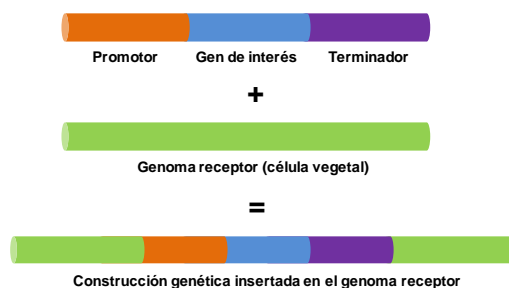
Los organismos genéticamente modificados (OGMs) se obtienen a partir de técnicas de transformación genética, con objeto de insertar en el genoma receptor un fragmento de ADN foráneo que confiere la característica deseada, para lo cual se requiere introducir elementos básicos (promotor, gen principal y terminador) en dicho genoma receptor (Figura 1), de modo que se promueve la transcripción del gen deseado utilizando la maquinaria bioquímica de la célula hospedadora.

Según Clive (2014), en el informe del ISAAA (*International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications*), 18 millones de agricultores de 28 países, entre ellos EEUU, Canadá, Brasil, Argentina, China, India y España, sembraron cultivos genéticamente modificados en 181,5 millones de hectáreas (la mitad corresponde a cultivos de soja transgénica). Recientemente, la Comisión Europea autorizó la comercialización de 10



nuevos OGMs, que se añadirán a la lista existente de 58 OGMs autorizados en la Unión Europea para usos alimentarios y piensos, que cubren cultivos como maíz, algodón, soja, colza, remolacha azucarera y patata (European Commission, 2016).

Figura 1. Componentes básicos de un OGM



A pesar de su rápida y creciente adopción por los agricultores a nivel mundial, los OGMs han generado una gran controversia y desconfianza en los consumidores, encontrándose una gran oposición, sobre todo en Europa, debido principalmente a los temores sobre la seguridad de los alimentos y a las consecuencias medioambientales (Royo, 2013; Lucht, 2015). A pesar de no existir consenso en la nocividad de los alimentos transgénicos para la salud o para el medio ambiente, la Unión Europea ha considerado necesario establecer reglamentos sobre el etiquetado y la trazabilidad de los OGMs (Reglamento CE N° 1829/2003 y Reglamento CE N° 1830/2003). De acuerdo con la legislación europea vigente, es obligatorio indicar la presencia de OGMs en el etiquetado de un alimento o pienso cuando contenga algún OGM autorizado en cantidades superiores al 0,9%. Asimismo, en la lista de ingredientes debe de aparecer el término “modificado genéticamente” (al lado del ingrediente pertinente). Por debajo del mencionado nivel no es necesario indicar nada en el etiquetado de los productos, siempre que se demuestre que la presencia de OGM es accidental o técnicamente inevitable.

En los últimos años se ha detectado la presencia inadvertida de OGMs en alimentos comercializados en países como Hungría (Ujhelyi et al., 2008), Noruega (Holst-Jensen et al., 2012) o Turquía (Turkec et al., 2016). La presencia no declarada de transgénicos en alimentos pone en evidencia la dificultad de abordar el cumplimiento de la legislación de forma empírica, dado el nivel de complejidad de las técnicas moleculares, lo que impide su implementación rutinaria en un entorno descentralizado y sin personal cualificado. Generalmente, la detección de OGMs se lleva a cabo amplificando una secuencia de ADN específica de la modificación o inserción transgénica, mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el presente trabajo, se han analizado 24 muestras de alimentos que contienen soja, adquiridos en el mercado español, importados o fabricados en España, utilizando un método de PCR convencional con cebadores específicos para detectar la posible presencia de soja transgénica *Round-up Ready*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han adquirido 24 muestras alimentarias en supermercados españoles, compuestas mayoritariamente por soja (ver Tabla 1). Dichas muestras se han clasificado de acuerdo al grado de procesamiento, considerando tres niveles según la cantidad de ingredientes, los tratamientos estimados en la elaboración del alimento y si éstos modifican en gran medida su composición, como es el caso de la fermentación. Nivel I: mínimo procesamiento (por ejemplo: granos pelados y secados); nivel II: procesamiento moderado, como tratamiento con altas temperaturas y presión, adición de agentes coagulantes y/o sales, etc. (por ejemplo: tofu y soja texturizada); nivel III: alto



procesamiento, como tratamiento y mezcla con aceites y un gran número de componentes (por ejemplo: galletas, soja fermentada, salsas, etc.).

Tabla 1. Listado de muestras alimentarias analizadas, procedencia, etiquetado y nivel de procesamiento

Código de Muestra	Descripción	Procedencia ^a	Etiquetado	Nivel de Procesamiento
SOYFO-01	Granos de soja amarilla	China	Sin información	I
SOYFO-02	Soja negra salada	China	Sin información	III
SOYFO-03	Soja fermentada <i>Natto</i>	Japón	Sin información	III
SOYFO-04	Granos de soja con cáscara (natural)	China	Sin información	I
SOYFO-05	Granos de soja (natural)	China	Sin información	I
SOYFO-06	Soja frita	España*	Sin información	II
SOYFO-07	Soja texturizada fina	Serbia	Sin información	II
SOYFO-08	Soja texturizada fina	Reino Unido	Sin información	II
SOYFO-09	Extracto de harina	Brasil	Sin información	I
SOYFO-10	Bebida de soja en polvo	China	Sin información	I
SOYFO-11	Soja amarilla en polvo	China	Sin información	I
SOYFO-12	Polvo de soja y arroz (<i>Youzao</i>)	España	Sin información	I
SOYFO-13	Nudos de soja	China	Sin información	II
SOYFO-14	Tofu blando	España	Libre de OGM	II
SOYFO-15	Galletas de soja frita	España**	Sin información	III
SOYFO-16	Barras de cereales	Japón	Sin información	III
SOYFO-17	Tofu en tiras	N.D.	Sin información	II
SOYFO-18	Tofu en hojas	N.D.	Sin información	II
SOYFO-19	Pasta de soja fermentada (<i>Miso</i>)	Taiwán	Libre de OGM	III
SOYFO-20	Galletas de soja	Taiwán	Sin información	III
SOYFO-21	Tofu frito	España	Sin información	II
SOYFO-22	Tofu firme	Estados Unidos	Sin información	II
SOYFO-23	Sopa de <i>miso</i>	China	Sin información	III
SOYFO-24	<i>Edamame</i> tostado	Estados Unidos	Sin información	II

^a *Origen de materia prima: Estados Unidos; **Origen de materia prima: China; N.D.: no declarado en la etiqueta.

Previamente a la extracción de ADN, la mayoría de las muestras fueron homogenizadas mecánicamente. A continuación, dicha extracción de ADN se llevó a cabo a partir de 200-500 mg de muestra utilizando el kit comercial *Nucleospin Food* (Macherey-Nagel, Düren, Alemania). La calidad y cantidad del ADN extraído fueron determinadas mediante un espectrofotómetro UV (UV260 Shimadzu, Japón), utilizando la proporción 260/280 nm y la relación 1 OD = 50 ng/μL, respectivamente. Como controles se utilizó material de referencia al 0, al 1 y al 10% de contenido de soja *Round-up Ready* (IRMM, Bélgica).

Para la amplificación por PCR se utilizaron cebadores específicos previamente descritos en la base de datos de *European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed* (<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/>). Dichos cebadores permiten amplificar pequeños fragmentos de ADN, siendo esta funcionalidad especialmente necesaria en el análisis de alimentos procesados, en los que el ADN extraído suele encontrarse altamente degradado, en fragmentos de 100 pb o inferiores (Weighardt, 2007).

En cada una de las muestras, se amplificaron dos fragmentos, por una parte, el fragmento *Lec* (74 pb), relativo a la lectina, utilizado como control universal en todos los extractos de ADN y, por otro lado, el fragmento *RR* (84 pb), específico de la inserción transgénica en el genoma de la soja *Round-up Ready*. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen total de 25 μL, con 100 ng de ADN, 200 μM de cada dNTP, 200 nM de *RR-F/RR-R* o 400 nM de *Lec-F/Lec-R*, 2,5 mM (*RR*) o 2 mM (*Lec*) de MgCl₂, 67 mM de Tris-HCl (pH 8,8), 16 mM of (NH₄)₂SO₄, 0,01% de Tween 20 y 1 U de polimerasa *SuperHot Taq* (Genaxxon Bioscience, Ulm, Alemania).

Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador PTC-100 (MJ Research), utilizando un ciclo de desnaturalización inicial de 10 min a 95 °C; seguido de 37 (*RR*) o 35 ciclos (*Lec*) de 30 s a 95 °C, 30 s a 61 °C (*RR*) o 66 °C (*Lec*) y 30 s a 72 °C; y un ciclo final de extensión de 5 min a 72 °C. Los fragmentos amplificados se resolvieron en geles



de agarosa al 2 % (p/v), en tampón 1x SGTB (GRISP, Portugal), a 100 V constantes durante 25 min, utilizando un marcador de tamaño molecular de 100 pb (Sigma Aldrich, España). Las bandas se visualizaron con 1x GelRed (Biotium, CA, Estados Unidos), obteniéndose una imagen con un equipo fotográfico Kodak Digital Science (Rochester, NY, Estados Unidos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las 24 muestras analizadas se amplificó el fragmento *Lec*, lo cual nos indica que la calidad del ADN extraído era adecuada para la reacción de PCR, a pesar del alto nivel de degradación del ADN evidenciado por electroforesis tras el proceso de extracción de las muestras con niveles de procesamiento II y III. En dos (SOYFO-15 y 21) de las 24 muestras analizadas, a pesar de no declarar en su etiquetado la presencia de soja transgénica, se detectó el fragmento *RR* en cantidades estimadas ligeramente superiores al 1%, algo por encima del límite de etiquetado permitido. Asimismo, se confirmó la no detección de dicho fragmento en las dos muestras que presentaron en su etiquetado el término 'libre de OGM' (SOYFO-14 y 19; Tabla 1). En la mayoría de las 20 muestras restantes se detectó el fragmento *RR*, pero siempre en cantidades estimadas claramente inferiores al 1%.

Por otra parte, el método de PCR ha resultado ser altamente sensible, capaz de detectar desde 9 copias estimadas de genoma transgénico (por electroforesis). La proporción de OGM presente en estas muestras sólo se puede cuantificar de forma exacta mediante una PCR cuantitativa o en tiempo real. Las estimaciones realizadas en este trabajo constituyen una aproximación semi-cuantitativa, basada en la intensidad de las bandas con respecto a los controles de referencia.

CONCLUSIONES

La metodología utilizada ha permitido detectar la presencia no declarada de soja transgénica, evento GTS40-3-2, en dos de las 24 muestras de alimentos adquiridos en el mercado español. Por tanto, el etiquetado de dichos productos incumpliría el Reglamento europeo 1829/2003, al no reflejar en su composición la presencia del OGM. Asimismo, sugerimos que el etiquetado de la mayoría de los productos analizados, aún cumpliendo con la legalidad vigente, podría ser más informativo, incluyendo p.e. la proporción aproximada de OGM presente en el producto final, aunque sea inferior al 1%.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece la financiación pre-doctoral otorgada por la Universidad Complutense de Madrid.

BIBLIOGRAFÍA

- Clive J. 2014. ISAAA Brief No. 49. ISAAA, Ithaca, NY, USA.
- European Commission, 2016. <http://ec.europa.eu/food/plant/gmo/index_en.htm> (28 de marzo de 2016).
- Holst-Jensen A., Ali A.R., Emanuelsen L., Grønbeck T.M., Harbo S.B., Skjæret C., Spilsberg B., Waiblinger H.U. 2012. Capítulo en *Case Studies in Food Safety and Authenticity*, pp. 334-341.
- Lucht J.M. 2015. *Viruses*, 7: 4254-4281.
- Reglamento (CE) No 1829/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2003, sobre alimentos y piensos modificados genéticamente.
- Reglamento (CE) No 1830/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2003, relativo a la trazabilidad y al etiquetado de organismos modificados genéticamente y a la trazabilidad de los alimentos y piensos producidos a partir de éstos.
- Royo L.J. 2013. *Tecnología agroalimentaria*, 12: 40-44.
- Tilman D., Balzer B., Hill J., Beforta B. L. 2011. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 108: 20261-20264.
- Turkec A., Lucas S., Karlik E. 2016. *Food Control*, 59: 766-772.
- Ujhelyi G., Vajda B., Béki E., Neszlényi K., Jakab J., Jánosi A., Némethi E., Gelencsér E. 2008. *Food Control*, 19: 967-973.
- Weighardt F. 2007. *Nat. Biotechnol.*, 25: 1213-1214.



VALORACIÓN DE LA CASTAÑA COMO ALIMENTO DEL CERDO GOCHU ASTURCELTA EN RÉGIMEN EXTENSIVO

Navarro, Carlos¹

Tutores: De Blas, Carlos¹; Argamenteria, Alejandro²

¹Departamento de Producción Agraria. ETSIA. Universidad Politécnica de Madrid

²SERIDA. Asturias

cnavarrom88@gmail.com

RESUMEN

El Gochu Asturcelta es la raza porcina autóctona de Asturias. El manejo extensivo tradicional aprovecha los frutos que proporcionan los bosques de la región, como la castaña. La utilización de los recursos naturales para producir, ayudan a fijar población, y mantener los recursos naturales de la zona. La castaña es un alimento cuyos principales nutrientes son el almidón y los azúcares. Puede ser un sustituto del maíz, que es la materia prima principal de los piensos en la región. Tiene una digestibilidad y palatabilidad similar, si bien la absorción de los nutrientes se puede ver reducida debido a la presencia de taninos. La castaña también contiene una elevada cantidad de antioxidantes y su perfil de AG (ácidos grasos) puede mejorar la calidad del producto final al incrementar la presencia de AGPI (ácidos grasos poli insaturados).

INTRODUCCIÓN

El cerdo, en su versión más rústica y manejado en extensivo, ha sido tradicionalmente uno de los animales domésticos de los que más se sirvió el hombre para aprovechar los recursos del bosque y generar los alimentos necesarios para el autoconsumo familiar.

Asturias tiene también su raza porcina autóctona: el Gochu Asturcelta. Esta raza a punto de desaparecer, a día de hoy, tiene como objetivo recuperar no sólo la raza autóctona sino también las costumbres tradicionales de engorde cerdos.

Ofertar al mercado productos cárnicos asturianos diferenciados, no solo en virtud de su color, olor y sabor, sino también por contener compuestos favorables para la salud, todo ello bajo un modelo productivo respetuoso con el medio, en el marco de sostenibilidad y biodiversidad que la sociedad actual exige y está dispuesta a valorar son los actuales criterios del mercado, potenciando a la vez un aprovechamiento sostenible de los recursos, desarrollar actividades generadoras de empleo y generar riqueza. (Alejandro 2012).

EL GOCHU ASTURCELTA

La recuperación de las razas autóctonas es una necesidad si se quieren aprovechar adecuadamente unos recursos naturales sin que degeneren y que, al mismo tiempo, contribuyan a crear paisaje y a fijar población en el entorno rural. Permiten la obtención de alimentos de buena calidad sensorial, además de sanos y funcionales. Estos productos cada vez se valoran más.

El cerdo autóctono de Asturias es el gochu asturcelta, con un censo en 2011 de 1711 animales. Proviene del tronco (razas de cerdo) Celta, de la parte N-NE de la península. Las razas del tronco Celta proceden del jabalí europeo *Sus Scrofa ferus*. Estos animales son más bien magros y enjutos y no permiten un engrasamiento hasta edades avanzadas.



Como el cerdo ibérico, es un animal que tiende a producir canales más engrasadas que los cerdos blancos, con una grasa infiltrada más saludable, mayor proporción de ácidos grasos insaturados y con unas buenas cualidades organolépticas. Las necesidades nutricionales, igualmente, son similares a las del cerdo ibérico. Los animales son sacrificados a los 14,5 meses de edad media, con un peso en canal de 150 kg y un rendimiento en canal del 80%. Las hembras tienen una media de 7,8 lechones destetados por parto, con un peso al destete de 16 kg.

Imagen 1 : El Gochu Asturcelta



Fuente: Manual del Gochu Asturcelta

El régimen extensivo se basa en aprovechar los pastos con arbolado y los recursos naturales. En estos hay tres estratos, herbáceo, arbustivo-subarbustivo y arbóreo. Los cerdos pueden aprovechar los tres. El más importante al respecto es el arbóreo. En Asturias hay un total de 307495 ha de pasto arbóreo, pertenecientes a 20 categorías diferentes. En estos pastos es frecuente la presencia de especies que producen fruto en otoño, especialmente bellotas y castañas. En el manejo tradicional, se aprovechan estos frutos del bosque, durante todo el año, para la fase de acabado del cebo. Los animales consumen el fruto fresco, sin ingerir la cubierta coriácea. (Alejandro 2012).

LA CASTAÑA

La castaña es el fruto del castaño (*Castanea sativa* Mill.). El fruto es una cápsula muy espinosa que contiene 2 o 3 achenios, que son las castañas propiamente. En la Península Ibérica es considerado una especie nativa. (Álvarez-Álvarez 2010).

A pesar de que la producción de castaña ha sido tradicionalmente el principal objetivo en el noroeste de España, actualmente la producción de madera es el objetivo principal, especialmente en suelos empinados y pedregosos, donde la producción de la castaña no es rentable (Álvarez-Álvarez 2010). Actualmente hay unas 59745 ha de castañedos. La superficie de castañedos se ha reducido considerablemente en las últimas décadas debido al abandono de las prácticas tradicionales. (Alejandro 2012).

COMPOSICIÓN DE LA CASTAÑA

La castaña es un alimento que puede substituir al maíz, que es el producto utilizado habitualmente en la etapa final del cebo. La utilización de la castaña en régimen extensivo sería una práctica que ayudaría a mantener unos recursos, tanto naturales como culturales.



La ingesta por parte de los cerdos y la palatabilidad de la castaña no varían del maíz, sin embargo, la digestibilidad de sus nutrientes puede ser modificada por la presencia de factores secundarios, especialmente los taninos. Existen variedades más digestibles que otras. (Nieto 2002).

Tabla 1: Valor energético de la Castaña (kcal/kg MS)

	Castaña	Maíz
ED	2737	3465
EM	2663	3390
EN	-	2650

ED: Energía Digestible, EM: Energía Metabolizable, EN: Energía Neta. (Nieto 2002; FEDNA 2013)

La inclusión de castañas en la dieta en la etapa final del cebo cambia el perfil de ácidos grasos de la canal. Desde un punto de vista nutricional, estos animales se pueden considerar más saludables. (De Jesús 2016).

Los principales componentes de la castaña son el almidón, la proteína, y los azúcares. El fruto fresco tiene un elevado contenido en humedad (55%).

El contenido en almidón puede variar entre el 35% y el 15%, estos valores concuerdan con diversos autores (De la Montaña 2004; Pérez 2006; Pereira 2006). El 60% de este almidón es almidón resistente, que ofrece un sustrato fermentable para la microflora del ciego y el colón (Ribeiro, 2013). El contenido en proteína puede variar entre un 2,5% y un 3,5% en función del suelo donde crezca el castaño, siendo menor en suelos graníticos (De la Montaña, 2004). Es generalmente aceptado que el contenido en lípidos es bajo, alrededor del 1%. El contenido en minerales también es bajo, alrededor del 1% (De la Montaña 2004; Pérez 2006; Pereira 2006). En la fibra es donde encontramos el mayor rango de valores. La fibra bruta está alrededor del 1,2%. La FND puede variar entre el 8% y el 18%, la FAD entre el 1,5% y el 7,5%. El contenido en lignina también es reducido, un 3,3%. Los azúcares son el segundo principal carbohidrato en la castaña. Un tercio de los azúcares es sacarosa (Míguez, 2004). La glucosa y la fructosa tienen una reducida presencia, alrededor del 1%, la proporción de 1/1 se mantiene estable.

Tabla 2: Composición Química Castaña

	Castaña	Maíz		Castaña	Maíz
Humedad (%)	54.8	13.8	Ca (%)	0.04	0.03
Cenizas (%)	1	1.2	P (%)	0.15	0.25
PB (%)	3.1	7.5	Na (%)	0.01	0.01
EE (%)	1.2	3.6	Cl (%)	-	0.05
FB (%)	1.2	2.3	Mg (%)	0.07	0.1
FND (%)	10.8	7.9	K (%)	0.9	0.29
FAD (%)	2.9	3	S (%)	-	0.13
LAD (%)	3.3	0.9	Cu (ppm)	7	4
Almidón (%)	27.2	63.3	Fe (ppm)	18	28
Azúcares (%)	6.4	1.7	Mn (ppm)	39	7
			Zn (ppm)	14	24

PB: Proteína Bruta, EE: Extracto Etéreo, FB: Fibra Bruta, FND: Fibra Neutro Detergente, FAD: Fibra Ácido Detergente, LAD: Lignina Ácido Detergente (De la Montaña 2004; Pérez 2006; Pereira 2006; FEDNA 2013; Alejandro, 2012)

Los ácidos grasos (AG) que están en mayor proporción son el ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3). La proporción de estos AG



varía, pero siempre siendo el linoleico el AG presente en mayor cantidad (45% AG totales) seguidos del oleico y palmítico (15-30%) y con una presencia elevada de linolénico (6%) (Astorga 2011). Debido a este perfil de AG, el animal, al consumir la castaña, presentará una mayor cantidad de AGPI totales en la carne (n-3 y n-6) considerados saludables. (De Jesús 2016).

Tabla 3: Perfil de Ácidos Grasos (% de AG totales)

	Castaña	Maíz
C16:0	21	11
C18:0	1	2
C18:1	25	27
C18:2	45	56
C18:3	6	1

C16:0: Palmítico, C18:0: Esteárico, C18:1: Oleico, C18:2: Linoleico, C18:3: Linolénico
(Astorga 2011; FEDNA 2013; Alejandro 2012)

La castaña presenta un elevado contenido en Vitamina C (ácido ascórbico) y elementos antioxidantes (Pérez 2006; Hernández 2013), una concentración de 1,26 g/kg MS de fenoles totales (Hernández 2013) y una concentración de 0,13 mg/kg MS de taninos. (Nieto 2002).

La variabilidad encontrada en la composición entre cultivares y regiones principalmente corresponde a la gran diversidad genética, más que a las condiciones climáticas o las características del suelo del cultivo. (Pereira 2006).

CONCLUSIONES

La recuperación de las razas autóctonas es una manera de mantener unos recursos naturales, genéticos y culturales. La fase final de cebo se suele llevar a cabo mediante piensos concentrados que tiene el maíz como principal componente, estabulando a los animales. Volver a utilizar el manejo extensivo, substituyendo el maíz por la castaña es una opción viable, que además aporta un valor añadido al producto final, ya sea mejorando las calidades organolépticas, nutricionales (mayor contenido en n-3 y n-6) y la percepción que el consumidor tiene del producto, al haber sido producido de una forma tradicional, ayudando a conservar el patrimonio de la región.

BIBLIOGRAFÍA

- Alejandro Argamenteira, 2012, Manual del Gochu Asturcelta, SERIDA, Asturias, España, Capítulo I y VI
Álvarez Álvarez P., Díaz Varela E., Cámara Obregón A., 2010, Agroforestry Systems, 79, 291-301
Astorga España M. S., Rodríguez Galdon B., Díaz Romero C., Rodríguez Rodríguez E. M., 2011, Journal of Food, 9:1, 77-81
De Jesús M. C., Domínguez R., Cantalapiedra J., Iglesias A., 2016, Grasas Aceites, 67(1), 119
De La Montaña Míguez J., Míguez Bernárdez M., García Queijeiro J. M., 2004, Food Chemistry, 84, 401-404
Hernández Suárez M., Rodríguez Galdón B., Ríos Mesa D., Díaz Romero C., Rodríguez Rodríguez E. M., 2013, Food and Nutrition Sciences, 3, 705-715
Míguez Bernárdez, M.M., De la Montaña Miguélez, J., García Queijeiro, J., 2004. Journal of Food Composition and Analysis, 17, 63-67
Nieto R., García M. A., Aguilera J. F., 2002, Solo cerdo Ibérico, 51-56
Pereira Lorenzo S., Ramos Cabrer A. M., Díaz Hernández M. B., 2006, Scientia Horticulturae, 107, 306-314
Pérez González L. M., Hernández Suarez M., Díaz Romero C., Rodríguez Rodríguez E. M., 2006, Ciencia y Tecnología Alimentaria, 5:3, 195-205
Ribeiro R. S., Pinho M., Falcão Cunha L., 2013, Animal Feed Science and Technology, 182(1-4), 111-120



DESARROLLO DE UNA APLICACIÓN INFORMÁTICA PARA EL CÁLCULO AUTOMATIZADO DE INDICADORES AMBIENTALES EN ACTIVIDADES AGRÍCOLAS A PARTIR DE LOS CUADERNOS DIGITALES DE EXPLOTACIÓN

Arrúe Gonzalo, Lucía

Tutores: Barreiro Elorza, Pilar¹; Ruiz Amador, Diego²

¹Departamento de Ingeniería Agroforestal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

²Grupo de Agroenergética E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

lucia.arrue@hotmail.es

RESUMEN

En este trabajo se ha desarrollado un módulo informático capaz de calcular automáticamente la huella de carbono generada por una explotación agrícola, teniendo en cuenta los gases emitidos desde la fabricación de insumos y extracción de materias primas hasta la producción del cultivo. Este módulo se integrará en la aplicación CROPTI, una startup de base tecnológica que ayuda a los agricultores a cumplimentar diferentes estándares de trazabilidad. El procedimiento lógico que se ha elaborado para el cálculo de la huella de carbono consta de dos fases: en primer lugar, se realiza un pre-análisis de los datos brutos, obtenidos de los demás módulos de la herramienta informática, para filtrarlos y depurarlos con el fin de utilizar datos consistentes; seguidamente el software calcula la huella de carbono producida por el cultivo objetivo, en el caso de este proyecto ha sido la cebada (*Hordeum vulgare* L.). Los resultados se han comparado con artículos científicos directamente relacionados.

Palabras clave: *huella de carbono, cuadernos de campo, cálculo automatizado*

INTRODUCCION

En la actualidad los productos fitosanitarios son clave para el control de plagas, enfermedades y malas hierbas y por consiguiente para el aumento de la productividad de los cultivos. Pero no hay que olvidar que estos productos también poseen efectos adversos para la salud humana y para los ecosistemas, es por ello que la Unión Europea (UE) y el Estado Español han establecido una serie de medidas reguladoras para llevar un registro del consumo de estos insumos, con el ánimo de garantizar la calidad y seguridad de los alimentos. Una de estas medidas es el Real Decreto 1311/2012, en el que se establece la obligatoriedad de cumplimentar los cuadernos de explotación (CDE) para percibir las subvenciones concedidas por la Política Agrícola Común (PAC). El CDE es un documento oficial que pretende caracterizar los tratamientos fitosanitarios realizados en una explotación, en el que se incluyen datos relacionados con la superficie tratada, la dosis aplicada o la fecha de realización del tratamiento, entre otros.

En este contexto nace Cropti, una aplicación informática que posibilita la cumplimentación de los CDE de manera digital a través del ordenador o de un dispositivo móvil. Además ofrece otros servicios para caracterizar las demás actividades agrícolas (laboreo, fertilización, siembra y cosecha); dispone de un módulo de costes, un vademécum actualizado; una alerta de zonas protegidas y un gestor de documentos. Esta herramienta va dirigida a un amplio abanico de clientes (particulares, cooperativas, asesores, casas de distribución de fitosanitarios), actualmente Cropti gestiona alrededor de 800.000 ha del territorio español, lo que supone alrededor del 3% de la superficie agraria útil en España.

TIPOLOGÍA Y NATURALEZA DEL PROYECTO

En este estudio se ha realizado una ampliación de la aplicación web Cropti, creando un módulo complementario nuevo capaz de calcular de manera dinámica la huella de carbono de un cultivo en una parcela a partir de los datos recogidos en los CDE



proporcionados por los módulos ya existentes. Para diseñar el procedimiento de cálculo se ha hecho un proyecto piloto analizando los datos del cuaderno de campo de un usuario de la aplicación (76 parcelas de cebada (*Hordeum vulgare* L.) en secano).

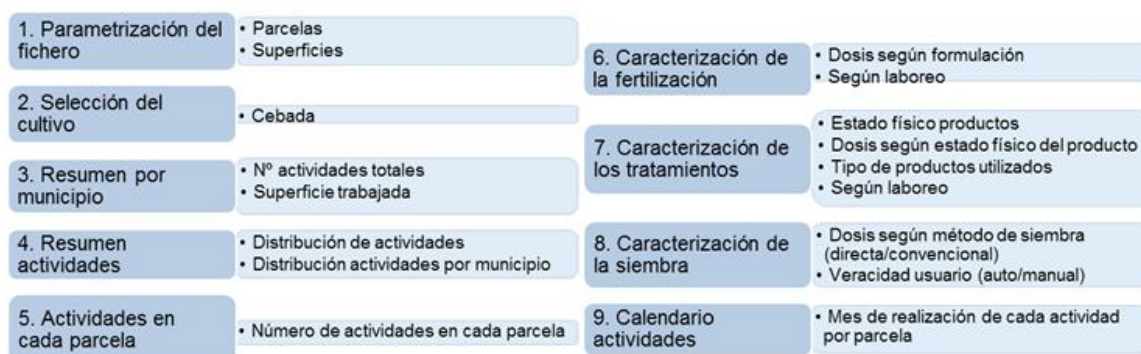
Este proyecto ha tenido que responder a condicionantes y criterios de naturaleza diversa impuestos por el promotor: 1) diseñar un algoritmo que calcule la huella de carbono producida por un cultivo; 2) en el plazo de seis meses; 3) optimizando los recursos tanto materiales como de personal para hacer una inversión lo más reducida posible; 4) adaptable a diferentes cultivos, localizaciones y manejos; 5) fácil de usar, 6) utilizando el mínimo espacio virtual y la máxima capacidad de procesamiento para no ralentizar la actividad de la herramienta; y por último 7) con unas líneas de diseño acordes con la aplicación.

Así, se han definido los objetivos que se persiguen en el proyecto, siendo el principal, el aumento de la competitividad de la empresa, ya que habiendo hecho algunas encuestas a agricultores y asociaciones se ha visto que existe una cierta demanda de conocimiento de la huella de carbono y se puede ampliar el abanico de clientes al que llegaría Cropti. También este proyecto intenta fomentar la concienciación del sector agrario de los problemas medioambientales y satisfacer a los usuarios que utilizan la herramienta.

BASES DEL DISEÑO. PROYECTO PILOTO

Para automatizar el cálculo se han diseñado las rutinas de programación en el entorno de cálculo científico Matlab (MathWorks, Inc). El procedimiento seguido consta de dos fases, en primer lugar se realiza un análisis previo de los datos brutos introducidos por el usuario en el CDE, y seguidamente se calcula la huella de carbono, utilizando la metodología de análisis de ciclo de vida (ACV) (Ruíz Amador & Zúñiga López, 2012).

Figura 1. Procedimiento automatizado del pre-análisis de los datos brutos de la explotación, fase 1 (elaboración propia)



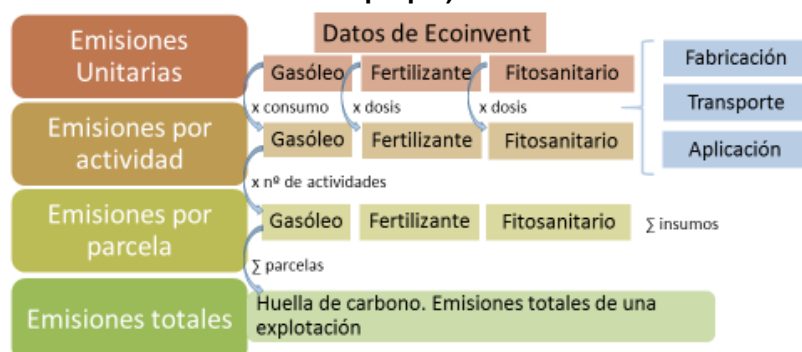
En la figura 1 se puede apreciar el método seguido para automatizar la primera fase de análisis de datos en bruto. Gracias a este pre-análisis se localizan y depuran los registros con el fin de utilizar datos consistentes (datos homogéneos en formato y unidades) además, permite caracterizar el manejo que se ha llevado a cabo en las diferentes parcelas de la explotación. Al ejecutar estas rutinas de programación se vio que en la explotación estudiada, de las 76 parcelas, el 87% realizaba no laboreo, el 97% una sola siembra (con dosis completamente uniformes para todas las parcelas), el 92% dos fertilizaciones (una de fondo y otra de cobertura) y el 89% tres tratamientos fitosanitarios (utilizando 8 productos diferentes, todos herbicidas, el 31% de los tratamientos se realizó con Roundup Ultra Plus y el 28% con Grandstar Super 50 Sx). Por último, se concluyó que los datos presentes en los diferentes módulos de Cropti son suficientes como punto de partida del ACV (dosis, superficies, métodos, productos...).

En la segunda fase se calcula la huella de carbono del cultivo objetivo utilizando la metodología ACV (con diferentes etapas: definición de objetivos y alcance, inventario y evaluación del impacto de ciclo de vida e interpretación de resultados). Las fuentes de



datos que se utilizaron fueron Cropti (datos referentes al manejo agrícola que se ha llevado en la explotación) y Ecoinvent, base de datos con inventarios de ciclo de vida (datos referentes a las emisiones unitarias de los insumos).

Figura 2. Método automatizado para el cálculo de la huella de carbono, fase 2 (elaboración propia)



La manera en que se lleva a cabo el cálculo en la segunda fase (Figura 2) permite desglosar el impacto generado en las diferentes etapas del ciclo de vida del cultivo (fabricación de insumos, transporte y producción del cultivo), en los diferentes insumos utilizados (gasóleo, fertilizantes y productos fitosanitarios) y, con respecto, al gasóleo, la huella de carbono producida por cinco actividades agrícolas (laboreo, siembra, fertilización, tratamientos fitosanitarios y cosecha). Estas huellas de carbono se pueden visualizar para cada parcela y para la explotación entera expresados tanto en kg de CO₂/ha cultivada, en kg de CO₂/kg de grano de cebada cosechado como en kg de CO₂ totales.

Al analizar los datos obtenidos de la ejecución de las rutinas de programación diseñadas de las fases 2 se descubrió que en la explotación estudiada, el fertilizante es el insumo que mayor impacto genera mayor impacto en la huella de carbono (Figura 2.1), el laboreo es la operación agrícola que más gases de efecto invernadero produce, en referencia al gasóleo (Figura 2.2) y por último, la fabricación de insumos es la etapa del ciclo de vida de la cebada que más contribuye a la huella de carbono (Figura 2.3, ejemplo del fertilizante), de las etapas estudiadas.

Figura 2. Emisiones de dióxido de carbono equivalente por hectárea de los insumos analizados (2.1), de la combustión del gasóleo (2.2) y de las etapas del ciclo de vida de la cebada para el caso del fertilizante (2.3) (elaboración propia)

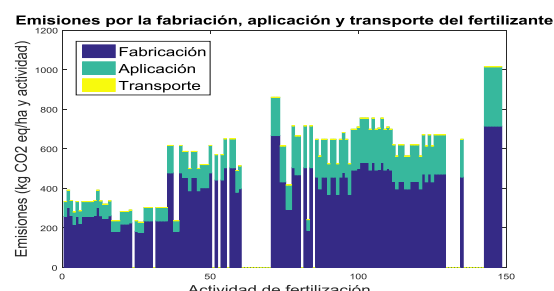
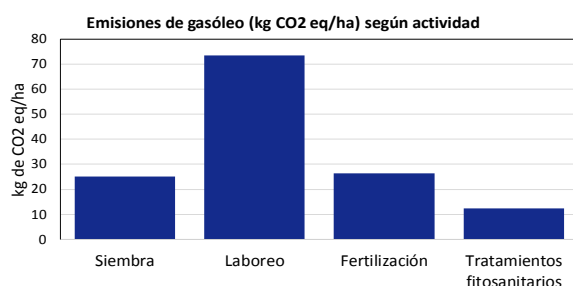
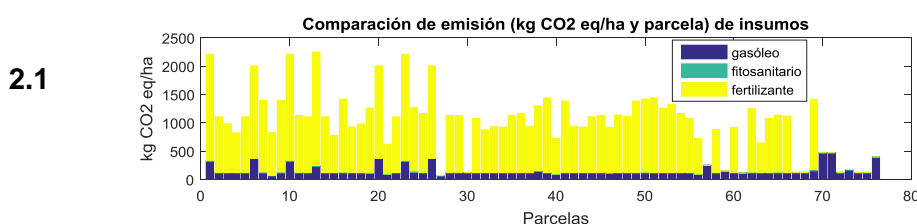




Tabla 1. Comparación de resultados obtenidos con un artículo de referencia Maraseni & Cockfield, 2011 (elaboración propia)

Insumo	kg CO ₂ eq/ha			
	Maraseni y Cockfield (2012)		Proyecto	
	No laboreo	Laboreo	Mediana ⁽¹⁾	Media ⁽¹⁾
Combustible	83,9	162,5	115,05	149,36
Agroquímicos	126	61,3	9,4	3,36
Fertilizante	4,6	4,6	982,44	865,76

(1) Se han considerado las medianas y las medias de los valores de las emisiones por ha en cada parcela

Para comprobar si los métodos seguidos habían sido correctos se compararon las emisiones producidas por cada insumo en todas las parcelas estudiadas con un artículo científico (Maraseni & Cockfield, 2011) que encaja con el proyecto piloto ya que estudia el mismo cultivo y especifican el tipo de manejo (Tabla 1). Se observaron resultados congruentes en el caso del combustible ya que las magnitudes se corresponden, mientras que se evidenciaron diferencias destacables en el caso de los fertilizantes y los productos fitosanitarios. En caso de los fertilizantes, las diferencias son atribuibles a que en el estudio llevado a cabo en el artículo de referencia no se aplicó ningún tipo de abonado, mientras que en el caso de los fitosanitarios podría ser debido a la diferencia de datos primarios utilizados en el artículo y en el proyecto piloto. Como se ha indicado, los resultados relativos a la emisión derivada del empleo de gasóleo se corresponden debidamente (Tabla 1).

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para comprobar si los objetivos y metas del proyecto se alcanzaron se llevó a cabo una evaluación financiera, social y ambiental. La primera de estas evaluaciones se llevó a cabo con diferentes criterios financieros (VAN, TIR, relación beneficio/inversión y pay back) estudiando dos escenarios hipotéticos diferentes (considerando distintas demandas de uso de la herramienta), obteniéndose resultados favorables en ambos escenarios. Las evaluaciones social y ambiental se están llevando a cabo realizando encuestas a los usuarios actuales y potenciales antes de utilizar la herramienta, estas encuestas se han realizado a través de asociaciones de agricultores, redes sociales y la lista de correos de Cropti, se percibió a partir de los resultados que existe demanda para conocer la huella de carbono de los cultivos. Las evaluaciones ambiental y social continuarían realizando las encuestas a los usuarios cuando lleven varios años de uso y se compararía el alcance y el efecto conseguido. Las preguntas tratan sobre el conocimiento que tienen los usuarios sobre los indicadores ambientales, especialmente de la huella de carbono y sobre si se ha modificado el manejo de la parcela al conocer las fuentes que producen mayores emisiones.

CONCLUSIONES

Se concluye que el proyecto es viable financieramente a la vez que ofrece un servicio de beneficio social y ambiental.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración de todos los agricultores que desinteresadamente prestaron su ayuda, dando su opinión en las diferentes encuestas.

BIBLIOGRAFÍA

- Maraseni, T. N., & Cockfield, G. (2011). Does the adoption of zero tillage reduce greenhouse gas emissions? An assessment for the grains industry in Australia. *Agricultural Systems*, 104(6), 451-458.
- Arrúe, L. (2015) Desarrollo de una aplicación informática para el cálculo de indicadores ambientales (huella de carbono) a partir de los cuadernos de explotación. Proyecto de fin de grado, Archivo digital UPM.
- Ruíz-Amador, D., & Zúñiga-López, I. (2012). Análisis de ciclo de vida y huella de carbono



IDENTIFICACIÓN DE LOS ESCURRIDIZOS RIZOBIOS QUE NODULAN EL GARBANCILLO DE TALLANTE PARA MEJORAR SU CONSERVACIÓN

Pacheco, Alba¹; Bautista, Ana; Durán, David¹

Tutores: Rey, Luis; Ruiz-Argüeso, Tomás

¹Departamento de Biotecnología. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid)
alba.pacheco.moreno@alumnos.upm.es

RESUMEN

El garbancillo de Tallante (*Astragalus nitidiflorus*) es una leguminosa endémica exclusiva del Campo de Cartagena. Tras considerarse extinta, fue redescubierta en 2004 y está en un programa de conservación. Se ha multiplicado en vivero de dos formas: con turba mezclada con tierra del hábitat o con turba y fibra de coco. Sólo las plantas con tierra tuvieron un correcto desarrollo y presentaron nódulos fijadores de nitrógeno. Si la tierra se esterilizaba previamente, no aparecían nódulos y la planta no crecía bien. Se ha intentado aislar rizobios de nódulos para inoculante sin éxito. No obstante la secuencia del gen 16s amplificado a partir de ADN del nódulo corresponde a una bacteria del género *Mesorhizobium* identificado en nódulos de otras especies de *Astragalus*. Actualmente se está intentando aislar esta bacteria directamente de suelo y utilizando otras especies de *Astragalus* como posibles hospedadoras de rizobios de extractos nodulares de *A. nitidiflorus*.

Palabras clave: *Astragalus nitidiflorus*, conservación, simbiosis

INTRODUCCIÓN

El género *Astragalus* se encuadra dentro de la familia de las leguminosas y está representado por unas 3000 especies en el mundo, distribuidas en las regiones semi-áridas. En la Península Ibérica existen 41 especies descritas, de las cuales nueve se consideran endémicas. Entre ellas se encuentra el Garbancillo de Tallante o *Astragalus nitidiflorus* Jiménez Mun. et Pau, un endemismo de la región de Campo de Cartagena, provincia de Murcia. *A. nitidiflorus* es una especie perenne de vida corta de aproximadamente 30 cm de altura, con hojas pilosas imparipinnadas y cuyas flores se agrupan en racimos. Descubierta por primera vez en 1909, fue declarada extinta en 2003 hasta que un año después fuera hallada una población de unos 40 individuos en la zona de Los Pérez Bajos, Cartagena. Más tarde, se caracterizaron cinco núcleos poblacionales con aproximadamente un total de 200 individuos. Así pues, dada la limitada dispersión de la especie, en 2011 *A. nitidiflorus* fue declarada en peligro de extinción y actualmente se encuentra protegida por normativa nacional, RD 139/2011. Como parte de los esfuerzos realizados para evitar la desaparición del Garbancillo, se está estudiando la relación simbiótica existente entre esta planta y su rizobio ya que el desarrollo de inoculantes bacterianos permitiría mejorar el crecimiento de la especie e incrementar de este modo su población. Para poder avanzar en el conocimiento de esta simbiosis, el primer paso supone el aislamiento en placa del rizobio desde un nódulo de la planta. Sin embargo los experimentos tradicionales llevados a cabo han resultado infructuosos, por lo que se ha decidido emplear dos vías alternativas: el aislamiento indirecto del endosimbionte empleando un huésped no habitual y el aislamiento directo desde el suelo (Martínez-Sánchez *et al.*, 2011; Vicente *et al.*, 2011).



MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal utilizado

A. nitidiflorus, *A. pelecinus* y *Erophaca baetica*.

Material bacteriano utilizado

Mesorhizobium sp. Ex4.6 aislado de *E. baetica*, *Mesorhizobium* sp. ISB3 aislado de *A. pelecinus* y extracto de nódulos de *A. nitidiflorus*.

Desinfección de las semillas y crecimiento de las plantas

Las semillas se desinfectaron con lejía al 25% tras incubarse un minuto en etanol. En el caso de *A. nitidiflorus* y *E. baetica* a continuación se les realizó un corte en la cubierta para facilitar su germinación. Tras lavarse con abundante agua estéril, se germinaron y se crecieron en invernadero en hidroponía con solución Leonard y en condiciones bacteriológicamente controladas. Se utilizaron tres sustratos estériles distintos: vermiculita, vermiculita:turba (1:1) y vermiculita:suelo Cartagena (1:1).

Condiciones de los cultivos microbianos

Los cultivos microbianos de rizobio se incubaron a 28°C en medio YMB (Yeast Mannitol Broth), TY (Tryptone Yeast), medio mínimo y LB (Luria-Bertani). El extracto de nódulos se obtuvo a partir de un macerado en un tampón fosfato salino en condiciones estériles, por lo que previamente los nódulos se desinfectaron siguiendo el procedimiento empleado en las semillas.

Aislamiento de rizobios a partir de nódulos de *A. nitidiflorus*

Utilizando el extracto de nódulos, se realizó una estría en placas de medio YMB, TY y mínimo, además de medio YMB suplementado con NaCl 150 mM, CaCl₂ 0,25%, extracto de suelo (10 g de suelo de Cartagena más 40 ml de agua, incubado durante una hora a 28°C a 200 rpm. Después, se centrifugó 20 min a 5000 rpm, el sobrenadante se pasó a través de un filtro de 0,2 µm y se añadieron 2 ml por cada 250 ml de medio de cultivo), extracto de raíces de *A. nitidiflorus* (se germinaron 12 semillas y tras cinco días, se cortaron las raíces, se introdujeron en un falcon y se añadieron 10 ml de YMB. Después, se machacaron en condiciones estériles y se incubó 1h a 28°C a 200 rpm. Se centrifugó 20 min a 5000 rpm y el sobrenadante se filtró y se añadieron 2 ml por cada 250 ml de medio de cultivo) y antioxidantes (Muresu *et al.*, 2013).

Extracción de ADN desde el nódulo, secuenciación y análisis bioinformático

Se extrajo ADN de los nódulos (Muresu *et al.*, 2008) y se realizó amplificación por PCR de los genes *16S* y *nodC*. Tras la secuenciación, se utilizó la plataforma BLAST (Basic Local Alignment SearchTool, www.ncbi.nlm.nih.gov) y el programa MEGA7 para realizar análisis bioinformáticos y filogenéticos.

Aislamiento de *Mesorhizobium* spp. desde suelo

Se empleó MNPB (Manitol – Nitrato amónico – Bacitracina – Penicilina), un medio semiselectivo para aislar rizobios desde suelo (Louvrier *et al.*, 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento desde nódulo en los distintos medios empleados

Se realizaron ensayos de aislamiento en placas de YMB y se obtuvieron 41 aislados. Se probó su capacidad infectiva y en ninguno de los casos se obtuvo resultado positivo tras cuatro semanas postinoculación (spi). Este mismo procedimiento se llevó a cabo en medio TY, mínimo y LB con todos los suplementos mencionados en Material y Métodos sin resultados positivos.

Análisis filogenéticos

La secuenciación de productos de PCR obtenidos de ADN del nódulo muestra que el endosimbionte mayoritariamente representado en el interior de los mismos se corresponde con cepas del género *Mesorhizobium* (Fig. 1), lo que está en concordancia con lo descrito en la bibliografía en otras especies del género *Astragalus* (Laranjo *et al.*, 2013).

Mejora del crecimiento de las plantas de *A. nitiflorus* en invernadero



El crecimiento de las plantas de *A. nitidiflorus* en las condiciones de invernadero habituales no fue óptimo, por lo que con el objetivo de conseguir un sistema para obtener plantas más vigorosas se emplearon tres sustratos distintos: (A) Vermiculita:Suelo de Cartagena, (B) Vermiculita:Turba y (C) Vermiculita. Los primeros resultados apuntan a que las plantas crecidas en presencia de suelo de su entorno natural poseen un mayor vigor que aquellas crecidas en los sustratos inertes (Fig.2).

Figura 4. Árbol filogenético. A. Basado en la secuencia del gen *16S*. B. Basado en la secuencia del gen *nodC*. En rojo se destaca el endosimbionte correspondiente a *A. nitidiflorus* y en verde, el de *E. baetica*.

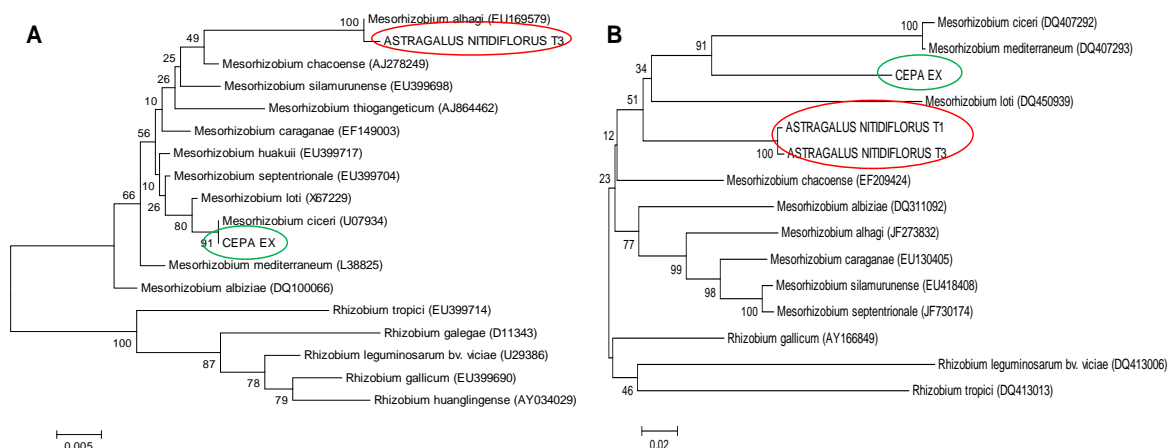


Figura 5. Plantas de *A. nitidiflorus* a 3 spi crecidas en Jarras Leonard en distintos sustratos.

A. Vermiculita:Suelo de Cartagena.

Aislamiento indirecto del endosimbionte de *A. nitidiflorus* (Ans)

Los resultados preliminares, apuntan a que el posible estado no-cultivable de la bacteria podría deberse a la acción ejercida por la planta durante el establecimiento y mantenimiento de la simbiosis, de tal forma que la fuerte diferenciación en bacteroides podría impedir la recuperación de la bacteria a una forma cultivable. Sin embargo, podrían existir huéspedes permisivos de los que sí se podría aislar el rizobio, por lo que se decidió inocular *A. pelecinus* y *E. baetica* con el macerado de nódulos de *A. nitidiflorus*. *A. nitidiflorus* con este macerado produce nodulación efectiva.

Tras 7 spi, las plantas de *A. pelecinus* inoculadas con Ans produjeron nódulos bajo todas las condiciones, sin embargo en el caso de *E. baetica* sólo se obtuvieron nódulos en condiciones de vermiculita:suelo. Los nódulos encontrados en *A. pelecinus* presentaron un color blanquecino en su mayoría, por lo que podrían ser ineficientes en fijación de nitrógeno. En el caso de *E. baetica*, los nódulos presentes bajo las condiciones de vermiculita:suelo presentaron un color más rojizo lo que implicaría una fijación efectiva de nitrógeno, no obstante serán necesarios más experimentos que esclarezcan la no aparición de nódulos en las otras condiciones. Sin embargo, en el caso del empleo de vermiculita sí se observan primordios de nódulos. Como control positivo en la efectividad de la inoculación, se analizó una planta de *A. nitidiflorus* inoculada con el macerado de nódulos y los resultados obtenidos fueron positivos (Fig. 3).

Los nódulos obtenidos fueron machados en tampón fosfato salino y utilizados para realizar aislamientos en placas de YMB. Tras aproximadamente 10 días de incubación, se podrán analizar los resultados. Este experimento está aún en desarrollo.

Aislamiento directo desde suelo

Mediante el uso del medio MNBP, se ha intentado el aislamiento directo desde el suelo de Cartagena de bacterias del género *Mesorhizobium* capaces de nodular *A. nitidiflorus*. Tras un primer intento en el que se inhibía el crecimiento de los *Mesorhizobium* empleados como control, se repitió nuevamente el experimento empleando el mismo medio pero sin adición de bacitracina y con una reducción del 10% del contenido de Penicilina G. En este caso, se consiguió un mejor crecimiento de los controles. Actualmente, se está trabajando en la optimización de un método que permita discernir las colonias de *Mesorhizobium* spp.

Figura 3. Ensayos de aislamiento indirecto del endosimbionte de *A. nitidiflorus* bajo distintas condiciones de sustratos recogidas a 7 spi.



CONCLUSIONES

(i) Las bacterias endosimbiontes de *A. nitidiflorus* no son cultivables en los medios tradicionales, (ii) el endosimbionte mayoritario en los nódulos de *A. nitidiflorus* pertenece al género *Mesorhizobium*, (iii) las plantas de *A. nitidiflorus* crecen mejor en sustratos que contengan suelo de Cartagena donde crecen naturalmente, (iv) el macerado de nódulos es capaz de nodular *A. pelecinus* y *E. baetica*, así como su huésped original, (v) la eliminación de bacitracina y la disminución de penicilina en el medio MNBP permitió el crecimiento de los Mesorizobia control.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor Luis Rey por su apoyo y ayuda imprescindibles. A Francisco Segura de la Universidad Politécnica de Cartagena, pilar fundamental en este trabajo. Este proyecto se encuadra bajo el proyecto LIFE11/BIOS/727.

BIBLIOGRAFÍA

- Laranjo M, Alexandre A and Oliveira S. 2014. Microbiol Res. 169: 2 - 17.
 Louvrier, P; Laguerre, G. and Amarger, N. 1995. Soil Biol. Biochem., 27: 919 - 924.
 Martínez-Sánchez, J.J; Segura, F.; Aguado, M.; Franco, J.A. and Vicente, M.J. 2011. Flora, 206: 423 - 432.
 Muresu R, Polone E, Sulas L, Baldan B, Tondello A and Squartini A. 2008. FEMS Microbiol Ecol., 63: 383 - 400.
 Muresu, R.; Tondello, A.; Polone, E.; Sulas, L.; Baldan, B. and Squartini, A. 2013. Arch Microbiol., 195: 385 - 391.
 Vicente, M.J; Segura, F.; Aguado, M.; Migliaro, S.; Franco, J.A. and Martínez-Sánchez, J.J. 2011. Biochemical Systematics and Ecology , 39: 175-182



ESTUDIO PRELIMINAR DE ANTIOXIDANTES SOBRE LA CALIDAD DEL SEMEN DE CONEJO

Bueno, Aurora¹; Meza, Aydee¹; Rodríguez, María¹

Tutores: Sakr, G. Osama²; Rebollar, Pilar G.¹

¹Departamento de Producción Agraria. Escuela de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid.

²Animal Production Department. Cairo University
aurorabuenomunoz@gmail.com

RESUMEN

En cultivos celulares in vitro, las especies reactivas de oxígeno (ROS) generan estrés oxidativo debido a que no existe ningún mecanismo de defensa endógeno que pueda disminuirlas. La membrana plasmática de los espermatozoides es muy vulnerable a ellas pudiendo afectar a su capacidad fecundante o incluso llegar a la muerte celular. Por eso, en este trabajo hemos utilizado dos análogos de superóxidodismutasa (un enzima natural contra ROS), que son el Tempo y el Tempol a diferentes concentraciones añadidas al diluyente (0,5 mM, 1 mM y 2 mM) para ver cuál de ellos y a qué concentración podrían preservar a 18°C los parámetros óptimos de calidad del semen diluido del conejo (viabilidad, formas anormales e integridad de membrana del flagelo). Cada prueba se realizó a 0, 6 y 24 horas de conservación. Ninguno de los dos antioxidantes empleados a cualquiera de sus concentraciones afectaron significativamente a los 3 parámetros estudiados en cada momento por separado, pero sí se observó un deterioro de los mismos a lo largo del tiempo. A la vista de estos resultados, es necesario completar el estudio aumentando el número de replicados, realizando test metabólicos que nos indiquen de una manera más precisa si el espermatozoide ha sufrido un daño oxidativo, y/o someter al semen a tratamientos más estresantes como son temperaturas más bajas de precongelación propiamente dicha (5°C) o tiempos de conservación superiores que definan si la adición de antioxidantes es eficaz para preservar los parámetros óptimos de calidad del semen.

Palabras clave: semen, conejo, antioxidante.

INTRODUCCIÓN

Uno de los grandes problemas de la ganadería es la conservación de las dosis de semen debido a que cuando estas células se manipulan in vitro durante las técnicas de reproducción asistida, corren el riesgo de sufrir estrés oxidativo originado por una explosión supra-fisiológica de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Agarwal et al., 2008). La membrana plasmática de los espermatozoides presenta un alto contenido de ácidos grasos insaturados, que los hacen susceptibles a sufrir peroxidación lipídica por efecto de las especies reactivas de oxígeno. La peroxidación lipídica afecta a la motilidad y fisiología espermática, disminuyendo la capacidad fertilizante del espermatozoide, pudiendo llegar a la muerte celular (Du Plessis et al., 2008; Ruiz, 2005). La producción de ROS es un proceso fisiológico normal, pero in vitro no existe ningún mecanismo de defensa endógeno (producción de antioxidantes) que pueda reducirlas y se vuelve patológico, generando estrés oxidativo (Bansal y Bilaspuri, 2011). El término de estrés oxidativo se aplica generalmente cuando los oxidantes superan en número a los antioxidantes en un medio (Agarwal et al., 2008). Para solucionar este problema podemos adicionar al medio algún antioxidante. Existen algunos estudios que han utilizado análogos de la superóxidodismutasa (SOD), un enzima que cataliza la conversión de superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno, como por ejemplo, el 2,2,6,6 tetrametil-1-piperidiniloxil (Tempo) y el 4-hidroxi 2,2,6,6 tetrametil-1-piperidiniloxil (Tempol), como antioxidantes para mejorar la conservación de semen de los animales

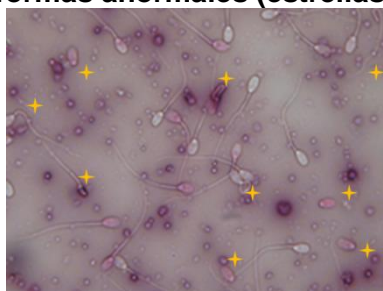


domésticos (Ruiz, 2005). En este trabajo, se han utilizado estos dos análogos de SOD a diferentes concentraciones (0,5, 1 y 2 mM) para conocer cuál de ellos y a que concentración se podría preservar satisfactoriamente los parámetros de calidad del semen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 machos adultos de conejo de la raza comercial neozelandés blanco x californiana entrenados para la recolección mediante vagina artificial de dos eyaculados dos veces por semana con un intervalo de 10-15 minutos. La recolección de semen para la prueba se realizó en 3 días diferentes, obteniendo 3 pools de 4 ml cada uno formados por los eyaculados de los 8 machos que presentaban características macroscópicas satisfactorias. La recogida se realizaba en la jaula del macho utilizando una hembra como maniquí, tal y como se describe por Rebollar (1993) y los eyaculados fueron valorados por la misma persona. Los parámetros macroscópicos que se analizaron fueron el color y el volumen, desechándose los eyaculados con coloraciones anormales (rojiza, amarillenta o marrón), y con un volumen inferior a 0,5 ml en ausencia de gel. Para diluir el semen se empleó un diluyente comercial para semen de conejo (Cudil, Magapor SL, España) a una dilución 1:3 (0,5 ml de semen y 1 ml de diluyente) al que se añadieron 3 concentraciones diferentes (0,5, 1 y 2 mM) de antioxidante Tempo (Sigma nº 2564-83-2) o Tempol (Sigma nº 2226-96-2). De este modo, de cada pool se prepararon 7 tubos eppendorf, cada uno de ellos con un tratamiento diferente: control (el semen solamente tenía diluyente), Tempo0,5, Tempo1 y Tempo2 (semen diluido con las 3 concentraciones de Tempo) y, por último, Tempol0,5, Tempol1 y Tempol2 (semen diluido con las 3 concentraciones de Tempol). Estos 7 tubos son nuestra unidad experimental, y de ellos se obtuvieron las muestras para realizar los test de integridad de la membrana de la cabeza del espermatozoide con el test de exclusión de la eosina (E.E.T), el de formas anormales y el de integridad de la membrana del flagelo con el Hypoosmotic Swelling Test (HOST). El E.E.T se realizó mezclando 10 μ l de semen con 10 μ l de Eosina al 1%, y añadiendo 10 μ l de nigrosina como colorante de contraste. Los espermatozoides con alteraciones estructurales en la membrana o muertos aparecían con la cabeza teñida de rosa y los vivos aparecen de color blanco (Imagen 1).

Imagen 1. Espermatozoides de conejo teñidos con el test de exclusión de la eosina. Se observan células vivas (cabezas blancas) y muertas (cabezas rosas), así como formas anormales (estrellas).



En las mismas preparaciones se contaban las formas anormales presentes (acefalias, colas enrolladas, colas rotas, cola doble, presencia de gota citoplásmica...). Para el HOST se mezclaron 10 μ l de cada muestra de semen con 10 μ l de una solución hipoosmótica de fructosa (60mOsmol), tal y como describe Ducci et al. (2002). Los espermatozoides con una membrana funcional, aparecieron con el flagelo curvado. En ambas pruebas se contaron un mínimo de 200 espermatozoides. El semen se conservó a una temperatura de 18°C en un baño de agua termostático y cada una de estas pruebas se realizó a 0, 6 y 24 horas tras la recolección de semen.

Para el análisis estadístico se utilizó el software SAS (SAS Institute, 2001), realizando un análisis de varianza con el tratamiento como efecto principal (proc GLM) y aplicando el Test de Dunnett para comparar las medias de cada tratamiento con el grupo control a las



0, 6 y 24 horas. Para estudiar el efecto del tiempo se empleó análisis de medidas repetidas (proc MIXED).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias significativas entre las variables (porcentaje de viabilidad espermática, de formas anormales y de integridad de la membrana del flagelo) al comparar la adición de antioxidantes respecto al control en ninguno de los 3 tiempos (0, 6 y 24 horas) y para ninguna de las 3 concentraciones empleadas.

En las siguientes figuras se muestran los resultados. Ninguno de los antioxidantes a ninguna de las concentraciones empleadas afectaron a los parámetros de viabilidad espermática estudiados en cada momento ($P > 0,05$). Sin embargo, se observó una disminución del número de espermatozoides vivos (Figura 1) y de la integridad de la membrana del flagelo (Figura 2) de importancia significativa ($P < 0,001$) a medida que transcurrieron las horas de conservación. Este deterioro no se observó en el porcentaje de formas anormales (Figura 3) ($P > 0,05$).

Figura 1. Porcentaje de viabilidad espermática según el test de integridad de la membrana de la cabeza del espermatozoide con el test de exclusión de la eosina. (E.E.T.) (a,b: $P < 0,05$ entre tiempos de conservación)

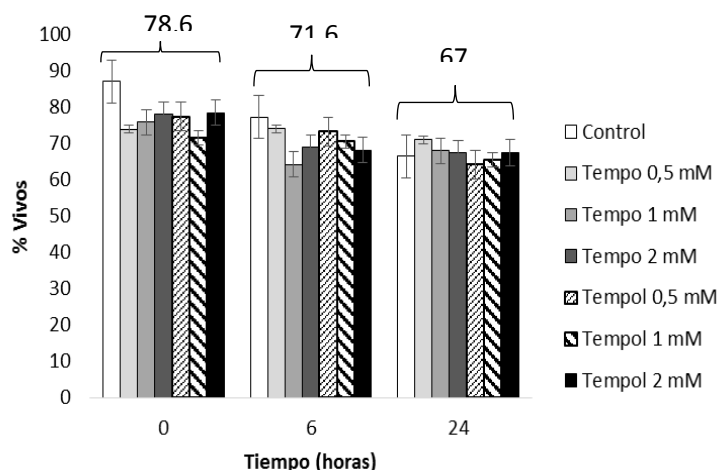


Figura 2. Porcentaje de viabilidad espermática según la prueba de integridad de la membrana del flagelo con el Hypoosmotic Swelling Test (HOST). (a,b,c: $P < 0,05$ entre tiempos de conservación)

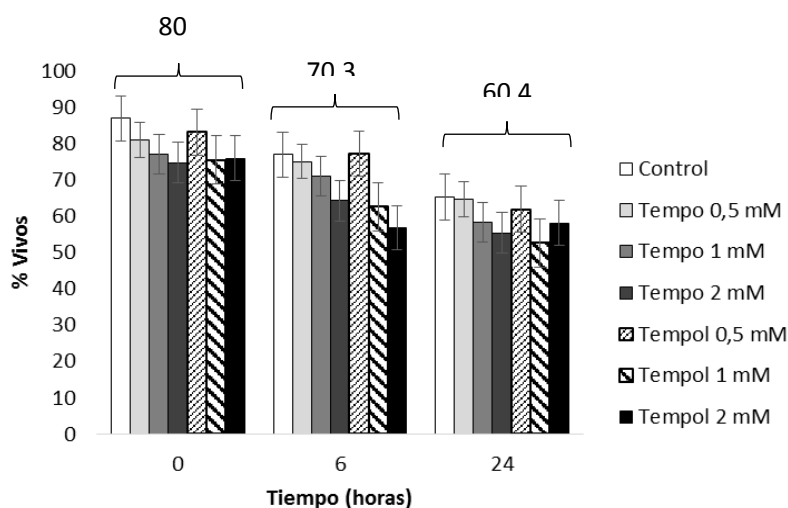
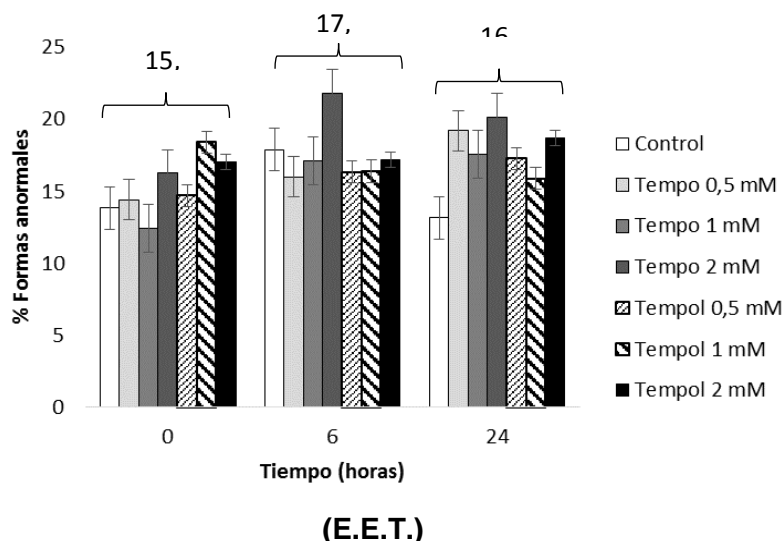


Figura 3. Porcentaje de formas anormales según el test de integridad de la membrana de la cabeza del espermatozoide con el test de exclusión de la eosina.



Con el transcurso del tiempo de conservación es normal que empeoren los parámetros seminales (López, 1997) debido a que es un cultivo celular, si a esto añadimos la temperatura de conservación (18°C) que es similar a la temperatura ambiente, las células tienen un mayor metabolismo y por tanto, mueren más temprano y sus membranas se desintegran más rápido que si el semen estuviera refrigerado. Sin embargo, el número de formas anormales no aumentó significativamente a medida que transcurrió el tiempo de conservación. Esto parece indicar que los antioxidantes empleados en este trabajo no tendrían efectos secundarios sobre las células y no provocarían daños en ellas, incluso podrían ejercer un efecto protector. No se descarta el que se necesiten más replicados para obtener resultados significativos o que haya que realizar el experimento con otras concentraciones de antioxidante y/o a temperaturas más bajas (5°C) para ver algún resultado favorable.

CONCLUSIONES

Los dos antioxidantes empleados (Tempo y Tempol) y las 3 concentraciones utilizadas (0,5 mM, 1mM y 2mM) no mejoraron ninguno de los 3 parámetros elegidos en este trabajo para evaluar la calidad del semen de conejo diluido a 18°C (viabilidad, integridad de membrana del flagelo y formas anormales). No obstante, no descartamos que las concentraciones de antioxidante utilizadas en este estudio puedan mejorar otras variables que también se utilizan para evaluar la conservación de la calidad seminal y que actualmente se están analizando.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822 y la Comunidad de Madrid (S2013/ABI-2913).

BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal A., Makker K., Sharma R. 2008. Expert Rev. Obstet Gynecol, 59: 2-11.
 Bansal A.K., Bilaspuri G.S. 2011. Vet. Med. Int., 68.
 Ducci M., Gazzano A., Villani C., Cela V., Artini P.G., Martelli F., Genazzani A.R. 2002. Obstet Gynecol, 102: 53-56.
 Du Plessis S.S., Makker K., Desai N.R., Agarwal A. 2008. Am. J. Reprod. Immunol, 3: 539-554.
 López F.J. 1997. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.
 Rebollar P.G. 1993. En: Alvario J.M.R. Control de la reproducción en el conejo. Ed Mundiprensa y Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación 65-87.
 Ruiz L.F. 2005. Tesis Fin de Grado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
 SAS Institute. 2001. SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.



ESPECTROSCOPIA VISIBLE E INFRARROJO CERCANO PARA EL ESTUDIO DE SUELOS AGRÍCOLAS

Ochoa, Yuri¹; Aramburu, Iratxe²; García-Fernández, Canela¹

Tutores: Barreiro, Pilar¹; Hontoria, Chiquinquirá³

¹Departamento de Ingeniería Agroforestal. E.T.S.I.A.A.B. Universidad Politécnica de Madrid.

²Facultad de Ciencias Geológicas. Universidad Complutense de Madrid.

³Departamento de Edafología y Química Agrícola. E.T.S.I.A.A.B. Universidad Politécnica de Madrid.
yp.ochoa@alumnos.upm.es, iratxear@ucm.es, canelagfernandez@gmail.com.

RESUMEN

En este estudio se propone verificar si la espectroscopia visible e infrarroja permite segregar distintas muestras de suelos con orígenes geológicos distintos y usos diferentes. Para ello se parte de muestras caracterizadas por sus propiedades físico-químicas (textura, Carbono Orgánico Total (TOC), pH, Conductividad Eléctrica (CE), Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC), Nitrógeno (N), entre otros), a las que se aplica un análisis de varianza. Los datos VIS-NIR se han pre-procesado mediante Standard Normal Variate (SNV) y se han analizado mediante análisis de componentes principales (PCA) y análisis múltiple de varianza (MANOVA). Una de las finalidades de este estudio es caracterizar la variabilidad espectral en la hipótesis de que ésta refleja el proceso complejo de formación del suelo.

Palabras clave: edafología, agricultura de precisión.

INTRODUCCIÓN

Desde hace una década, se vienen desarrollando estudios para determinar si el uso de la espectrometría VIS-NIR puede determinar algunas propiedades del suelo, por ejemplo, Ross S. Bricklemeyer (2009) lo refiere como un método rápido y barato de mapear el contenido en carbono orgánico (SOC) y la textura del suelo (principalmente el contenido de arcilla). Además, este autor cita que “la técnica VisNIR en condiciones de laboratorio se ha establecido como una técnica viable para la estimación de las múltiples propiedades del suelo (Brown et al, 2006; Morgan et al, 2009; Reeves y McCarty, 2001; Pastor y Walsh, 2002; Viscarra Rossel et al., 2006; Waiser et al, 2007), en cambio hay pocos estudios relativos al empleo VisNIR en el sitio (Ben-Dor et al, 2008; Morgan et al, 2009; Viscarra Rossel et al, 2009; Waiser et al., 2007). De hecho, algunos experimentos han evaluado las limitaciones de la técnica VisNIR en dinámico tanto para la evaluación del SOC o el contenido de arcilla del suelo (Christy, 2008; Shibusawa et al., 1999; Shonk et al, 1991; Sudduth y Hummel, 1993a, 1993b)”

Además de los estudios de carbono orgánico también encontramos información sobre el empleo de la espectroscopia NIR para detectar Nitrógeno. Así, (Santana, 2015) compara tres estimaciones de nitrógeno realizadas por autores diferentes con sensores NIR no destructivos. En este documento se representan los coeficientes de determinación (R^2) de cada uno de los tres casos, concluyendo que el mejor resultado obtenido ($R^2=0,87$) corresponde al sensor Shibuya. En este ensayo, además se estiman distintas fracciones de nitrógeno presente en el suelo (amoniacal, nitratos y extraíble con agua caliente) indicándose que es el amoniacal el más fácilmente predecible, siendo la fracción de nitratos la más compleja de evaluar.

El objetivo principal de este estudio es el de verificar si la espectroscopia visible e infrarroja permite segregar muestras de suelos con orígenes geológicos distintos y usos diferentes, siendo los objetivos secundarios: determinar la región del espectro que más información aporta, así como establecer el método de detección que se comporte mejor, basado en datos de validación.



MATERIALES Y MÉTODOS

Para alcanzar este objetivo se han seleccionado cuatro tipos de materiales parentales (arcosas -A-, margas yesíferas -Y-, calizas del Páramo -C- y granitos -G-) representativos de la zona centro peninsular y que están presentes dentro de los límites de la Comunidad de Madrid. Dentro de la Cuenca Sedimentaria, las arcosas se han estudiado en una zona aproximadamente delimitada por Tres Cantos, S. Sebastián de los Reyes y S. Agustín de Guadalix; las margas yesíferas en las vertientes del valle del río Tajuña en las cercanías de Perales de Tajuña; las calizas del Páramo al este de Madrid en una zona próxima a Villar del Olmo. En la Sierra, los granitos se han estudiado en las cercanías de Miraflores de la Sierra. Estos tipos de materiales parentales del suelo se han estudiado bajo cuatro usos distintos del mismo: dos forestales (pinar -PIN- y encinar -ENC-), matorral (MAT) y cultivo herbáceo en secano con laboreo convencional (CUL). Cada combinación de material parental y uso constituye una unidad de estudio y dentro de cada unidad se han estudiado tres repeticiones mediante la identificación de 3 zonas de muestreo de características semejantes. No se ha estudiado la combinación caliza del Páramo con pinar ni la combinación Granito con cultivo debido a la baja representación en el terreno de estas dos combinaciones. Por tanto, se cuenta con 14 unidades de estudio. En conjunto, se han identificado y estudiado 42 zonas de muestreo, que han sido localizados mediante recorridos de campo y análisis de la cartografía específica.

Los suelos se han caracterizado mediante análisis de referencia en laboratorio (textura, Carbono Orgánico Total (TOC), pH, Conductividad Eléctrica (CE), Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC), Nitrógeno (N), Carbono Oxidable (Coxid), Dióxido de carbono (CO_2), Carbonato de Calcio (CaCO_3), % agregados, Densidad Aparente, Infiltración), así como empleando espectroscopia VIS_NIR. Los datos espectrales fueron adquiridos con un equipo Hamamatsu PMA-11 con dos rangos espectrales: VIS extendido 300-950 nm, y NIR 900-1600nm. La temperatura ambiente durante las mediciones se mantuvo constante entre 21 °C y 23 °C, y el instrumento fue calibrado con una placa de sulfato de bario, así como corrigiendo la línea base de los detectores (corrección oscura); los datos espectrales se han tomado con cuatro niveles de humedad distintos del suelo. Para realizar el análisis estadístico se concatenó la información de los cuatro niveles de humedad, al mismo tiempo que se efectuó la lectura de los datos de visible e infrarrojo desarrollando para cada caso un (SNV); luego un (PCA) y (ANOVA) para visible y NIR.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

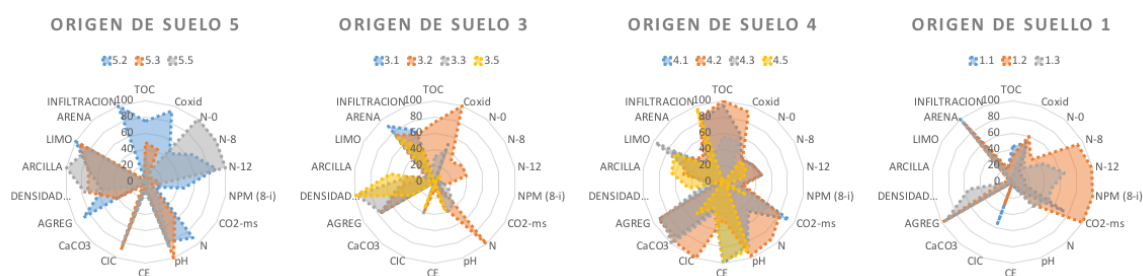
Caracterización de Referencia

En primer lugar se realizó un análisis de los datos de referencia de las muestras de suelo en laboratorio (126 datos, 43 muestras * 3 repeticiones), observándose que las propiedades que más varían según el origen geológico son el CO_2 -ms, pH, CE, Densidad, y CaCO_3 , limo, arcilla y arena; y dependiendo del uso: el TOC, N y Coxid principalmente (ver Figura 1). También se observa dependiendo del uso que el suelo tenga, sin importar su origen, variaciones en las propiedades fisicoquímicas (Materia orgánica, Carbono Oxidable, Nitrógeno, CIC, Agregados e infiltración).

Figura 1 . Grafica normalizada (0-1) que incluye 18 parámetros del suelo según el origen geológico; en el sentido de las agujas del reloj: TOC, Coxid, N-0, N-8, N-12,



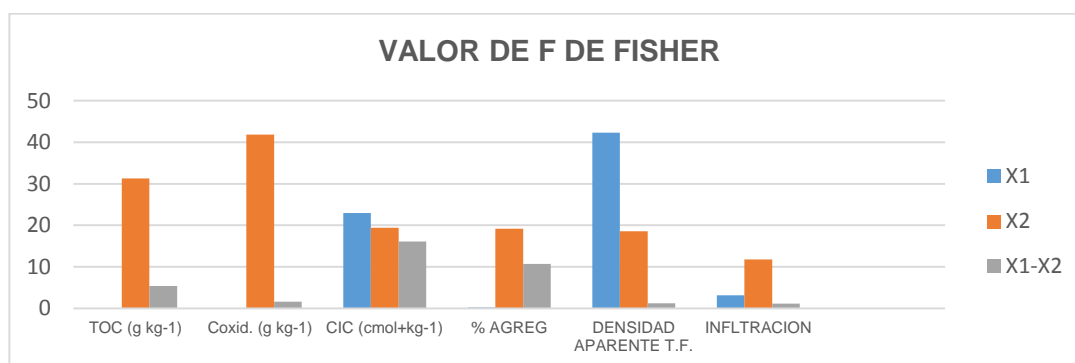
NPM, CO₂-ms, N, pH, CE, CIC, CaCO₃, AGREG, Densidad, Arcilla, Limo, Arena e Infiltración.



Análisis de varianza en las variables de referencia

En la Figura 2 se representan en forma de diagrama de barras los valores de la F de Fisher en el análisis de varianza en los ensayos de referencia, observándose que: **(1)** el contenido de Coxid y nitrógeno son los factores más variables ($F=41,87$ y $F=20,892$, respectivamente) y están relacionados con el uso agrícola del suelo; **(2)** la CIC y la densidad del suelo depende del origen geológico del suelo ($F=22,92$ y $F=42,28$, respectivamente); **(3)** la mayor interacción se observa en la CIC y el % de agregados ($F=16,11$ y $F=10,66$ respectivamente).

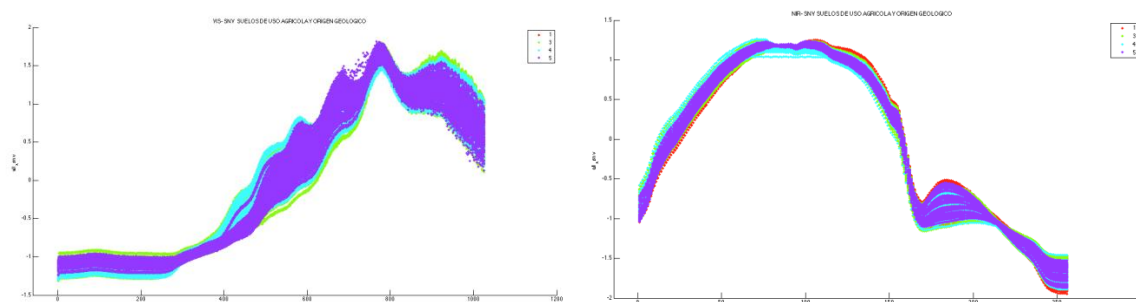
Figura 2 . Valores de F por cada propiedad, donde X1=Origen Geológico, X2=Uso Agrícola y X1-X2=interacción entre el Origen geológico y Uso Agrícola de los suelos.



Pre - procesados de espectros

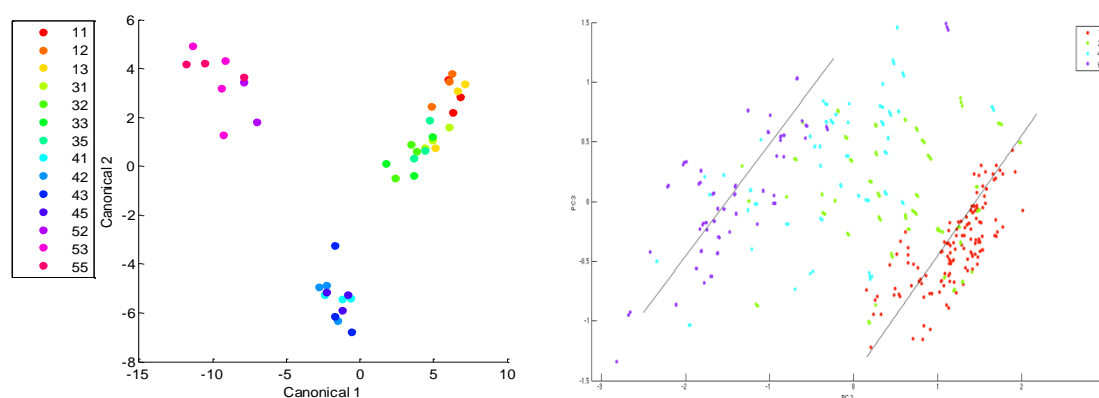
Los espectros VIS y NIR se han pre-tratado (Figura 3) mediante la transformación de la varianza normal estándar (SNV), que se basa en un centrado y escalado (restando la media y dividiendo por la desviación típica) de cada espectro, obteniéndose 516 espectros NIR, y 578 espectros de VIS (168 datos de humedad).

Figura 3. Espectros VIS y NIR tras la aplicación de SNV. Los colores indican orígenes geológicos distintos.



La Figura 4 muestra los valores de las variables canónicas del MANOVA aplicados sobre los componentes principales obtenidos de los espectros visibles (izda.) y los componentes principales aplicados sobre los espectros infrarrojos (dcha.).

Figura 4. Resultado del MANOVA aplicado a los espectros VIS (izda.) y del PCA aplicado a los espectros NIR (dcha.), en ambos casos tras el pre-procesado SNV. Los colores indican orígenes geológicos en los espectros VIS, y niveles de humedad distintos en los espectros NIR.



CONCLUSIÓN

La espectroscopia aporta información compleja que hay que condensar para poder relacionarla con las propiedades físico químicas del suelo. Entre las técnicas multivariantes disponibles, el PCA (no supervisado) y el MANOVA (supervisado) aplicado sobre PCA, aportan unos resultados impactantes con una capacidad de condensación de la información de 2 órdenes de magnitud (con 3 variables resumimos la información del 300 bandas espectrales). Variables como la humedad del suelo, (o la temperatura) suponen una interferencia importante en la información espectral que hay que considerar a la hora de establecer modelos de estimación de las propiedades físico-químicas.

BIBLIOGRAFIA

- Ross S., Brickleymer, D. J., 2009. On the go VisNIR: Potential and limitations for mapping soil clay and organic carbon. 209-210
 Santana, N. B. (2015). *Evaluación De La Relación Entre La Proporción De Los Atributos Químicos Y La Reflectancia Espectral (Vis-Nir) Del Suelo*. 55-59



PRUEBA DE LETALIDAD EMBRIONARIA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA Y LA VIRULENCIA DE ENTEROCOCCUS FAECALIS EN PONEDORAS

Blanco García, Ana E.

Tutor: Buxadé Carbó, Carlos

Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas
de la Universidad Politécnica de Madrid
blanco.g.ana@gmail.com

RESUMEN

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) es el principal patógeno aislado en casos de Artropatía Amiloide (AA) en pollos. Su importancia práctica es muy importante dada su capacidad para adquirir resistencia a los antimicrobianos. En la presente experiencia se utilizó el análisis de letalidad embrionaria (ELA) como posible modelo evaluativo de la virulencia de *E. faecalis*, concretamente de la cepa aviar K923/96, aislada en casos clínicos de AA. La prueba se repitió cuatro veces. Se inocularon embriones de pollo de 10 días de edad en la cavidad alantoidea con diferentes niveles de dosis infecciosas. Durante 7 días se registró diariamente la tasa de mortalidad embrionaria (TME) mediante ovoscopia. La dosis infecciosa mostró un efecto significativo sobre la TME. Se obtuvo una dosis letal media de 5,7 ufc/ml. La mayor TME se registró en los días 2 y 3 post inoculación. Se puede concluir que la ELA es un método adecuado para determinar la virulencia de *E. faecalis*.

Palabras clave: *enterococcus faecalis*, prueba de letalidad embrionaria, virulencia

INTRODUCCION

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) es una bacteria comensal del tracto gastrointestinal de humanos y animales. Sin embargo, se ha convertido recientemente en uno de los patógenos nosocomiales (patógenos que se contraen durante una estancia hospitalaria sin ser la causa del ingreso) más comunes, capaz de infectar individuos con un sistema inmune deficiente. Su resistencia intrínseca hacia los antimicrobianos y su habilidad para adquirir factores de virulencia asociados a diferentes genes dificultan su tratamiento, lo que ha motivado un gran interés en su estudio.

E. faecalis es el principal patógeno causante de Artropatía Amiloide (AA) en pollos. Afecta principalmente a los gallos y a las gallinas ponedoras, observándose en un 20 - 30 % de las parvadas europeas (Landman *et al.*, 1998). La enfermedad se caracteriza por la deposición de amiloide naranja en las articulaciones de la rodilla y en el corvejón, aparición de cojeras y una depresión en el crecimiento de la pollita, lo que conlleva posteriormente a una disminución de la puesta, lo que se traduce en unas pérdidas económicas para el ganadero.

En el caso que aquí nos ocupa, la prueba de letalidad embrionaria (ELA) se ha considerado un método alternativo al modelo animal para determinar la virulencia de diferentes cepas de bacterias como *Escherichia coli* (Wooley *et al.*, 2000; Gibbs *et al.*, 2003a y b), *Yersinia enterocolitica* (Townsend *et al.*, 2008), *Campylobacter jejuni* (Stewart-Tull *et al.*, 2009), *Riemerella anatipestifer* (Seo *et al.*, 2013) y *Enterococcus cecorum* (Borst *et al.*, 2014).

Por lo tanto, el primer objetivo de este estudio fue evaluar la ELA como método para determinar la virulencia de *E. faecalis* utilizando la cepa aviar K923/96 previamente relacionada con AA (Rudolph, 2004; Petersen *et al.*, 2009). De especial interés fue estimar la DL₅₀ y la virulencia de la citada cepa de *E. faecalis*, que se utilizará en futuros estudios como cepa de referencia.



MATERIAL Y MÉTODOS

Inóculo. El inóculo se preparó siguiendo el protocolo de Rudolph (2004). La cepa de *E. faecalis* K923/96 se recuperó del criobanco y, en condiciones estériles, se sembró en una placa de agar sangre de cordero. La placa agar se incubó en atmósfera aerobia durante 24 horas a 37 °C. Las colonias se recogieron por raspado y se introdujeron en 10 ml de tampón fosfato salino (PBS) estéril. El recuento bacteriano se realizó por el método de turbidez a una longitud de onda de 650 nm. Esta suspensión se ajustó a una absorbancia de $0,164 \pm 0,01$ para obtener una suspensión aproximada de 5×10^7 ufc/ml (suspensión I). Es importante mencionar que el número de colonias reales puede variar entre 500 y 5.000 ufc/ml.

A partir de la suspensión I se realizaron las siguientes diluciones:

- 100 µl de la suspensión I + 10 ml de PBS → Suspensión II ($\pm 5 \times 10^5$ ufc/ml).
- 50 µl de la suspensión II + 10 ml de PBS → **Suspensión III** (± 2.500 ufc/ml).

A partir de la **suspensión III** se realizaron las diluciones 1:10, 1:100, 1:500 y 1:1.000, que se corresponden a una dosis teórica de 250, 25, 5 y 2,5 ufc/ml respectivamente. Para un volumen de inoculación de 0,2 ml/huevo, se inocularon por lo tanto 500, 50, 5, 1 y 0,5 ufc/huevo.

Para verificar las ufc/ml contenidas en cada dosis, se realizó un recuento de viables en placa de agar sangre de cordero en cada ELA. Para ello se incubaron 0,1 ml de cada dosis en atmósfera aerobia durante 24 horas a una temperatura de 37 °C. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

Prueba de letalidad embrionaria (ELA). Se realizaron 4 repeticiones (ELAs I - IV) como se expone en la Tabla 1. Se utilizaron un total de 3.443 huevos fecundados de gallinas Lohmann de estirpe blanca de 47 a 51 semanas de edad. Se infectaron embriones de primera calidad de 10 días de edad.

Tabla 1. Características de las pruebas de letalidad embrionaria (ELAs I – IV)

ELAs	I	II	III	IV	Verificación (ufc/ml)
Cepa aviar de <i>E. faecalis</i>	K923/96	K923/96	K923/96	K923/96	
	2.500	-	-	-	> 1.000
	250	-	-	-	> 250
Dosis real de infección (ufc/ml)	25	25	25	25	85 - 258
	-	5	5	5	15 - 60
	2,5	2,5	2,5	2,5	10 – 35
N° huevos/dosis	100	290	300	300	-
N° huevos/control	60	57	108	148	-

*Se administró a cada huevo un volumen de infección de 0,2 ml

La superficie de los huevos fecundados se desinfectó con alcohol (bacillol). Cada huevo se perforó cuidadosamente en el polo romo con un punzón. Se inocularon 0,2 ml de la dosis infecciosa correspondiente, o 0,2 ml de PBS estéril en el caso del grupo control, en la cavidad alantoidea con una jeringa desechable. Los agujeros se sellaron con cola de madera y los embriones se introdujeron de nuevo en la incubadora a 37,5 °C durante 7 días. Se registró diariamente la tasa de mortalidad embrionaria (TME) mediante ovoscopia. Al final de cada ELA, a los 17 días de incubación, los embriones que sobrevivieron se almacenaron durante 48 horas a una temperatura de 4 °C.

Se seleccionaron aleatoriamente embriones que murieron y que sobrevivieron a la infección para su examen macroscópico, y para aislar y cuantificar las ufc de *E. faecalis* a partir de muestras de líquido alantoideo.



Análisis estadístico. El análisis estadístico de los datos de mortalidad se realizó utilizando un modelo de supervivencia, así como aplicando un modelo logístico lineal para medidas repetidas con una variable de respuesta binaria, que fue modelada como una variable aleatoria binomial (y_i). Se utilizaron los procedimientos GLIMMIX, LIFETEST y PROBIT del paquete estadístico SAS/STAT 9.3 (SAS Institute Inc., 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ELA mostró diferentes tasas de mortalidad embrionaria según la dosis de infección de la cepa K923/96 de *E. faecalis*, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Tasa de mortalidad embrionaria (%)

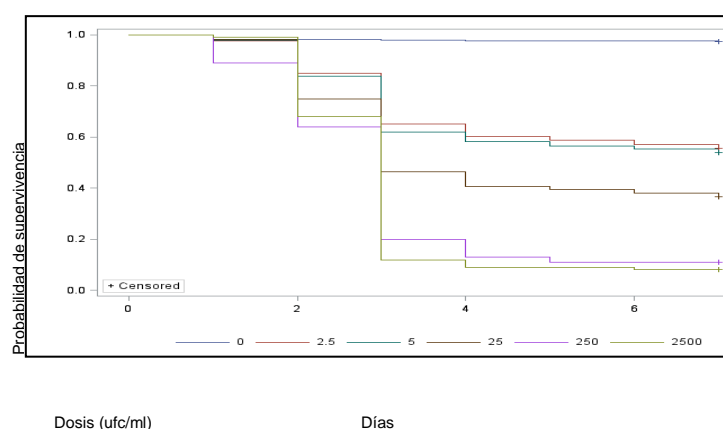
Dilución	Dosis de infección (ufc/ml)	ELA				Tasa media de mortalidad (%)
		I	II	III	IV	
1:1	2.500	92,0	-	-	-	92 ^b
1:10	250	89,0	-	-	-	89 ^b
1:100	25	71,0	48,0	85,0	56,0	66 ^{bc}
1:500	5	-	50,0	53,0	38,0	46 ^c
1:1.000	2,5	25,0	45,2	68,0	30,0	41 ^c
Control	Control	3,3	0	3,7	2,0	2,6 ^a

La dosis de infección mostró un efecto significativo ($P < 0,0001$) sobre la TME. Se observó que las dosis de infección más elevadas produjeron una mayor TME, en contraste con los resultados de Seo *et al.* (2013), quienes no observaron relación entre la TME y la dosis, probablemente por el uso de dosis muy elevadas ($10^8 - 10^9$ ufc) que provocaron siempre una elevada TME ($> 60\%$). Además, Seo *et al.* (2013) observaron que la mayor diferencia en la TME entre cepas virulentas y no virulentas de *R. anatispestifer* se produjo con dosis de 10^2 ufc/embrión. Por lo tanto, a la hora de realizar una ELA es importante determinar la dosis de infección apropiada para evitar una mortalidad embrionaria masiva que impida la discriminación entre las distintas cepas de *E. faecalis*.

En este sentido, la DL_{50} , definida como la dosis requerida para producir la muerte del 50 % de los embriones en un tiempo determinado, permitiría una correcta diferenciación entre las cepas virulentas y las cepas no virulentas de *E. faecalis*. Por ello se estimó la DL_{50} de la cepa de referencia de *E. faecalis* K923/96 en 5,7 ufc/ml (IC = 3,1 – 9,3), equivalente a la dilución 1:500.

Con el fin de conocer la probabilidad de supervivencia de los embriones durante el periodo experimental, se llevó a cabo un análisis de supervivencia. Los resultados se muestran en la Figura 1 en curvas de Kaplan-Meier.

Figura 1. Curva de supervivencia de embriones infectados con la cepa aviar K923/96 de *E. faecalis*





Se observó que cuanto mayor es la dosis de infección, menor es el tiempo de supervivencia del embrión, lo que coincide con los resultados de Nix *et al.* (2006). La probabilidad de supervivencia de los embriones disminuyó drásticamente, con todas las dosis de infección utilizadas, en los días 2 y 3 post inoculación (p.i.). En estos días se observaron las lesiones más graves: malformaciones, edemas subcutáneos, hemorragias craneales, pérdida de plumaje y subdesarrollo. A partir del cuarto día p.i. la probabilidad de supervivencia de los embriones decreció más lentamente, como informaron Wooley *et al.* (2000), Gibbs *et al.* (2003a y b), Stewart-Tull *et al.* (2009), Seo *et al.* (2013) y Borst *et al.* (2014) con otras bacterias.

Cabe señalar que el re-aislamiento bacteriano de los embriones infectados, tanto muertos como supervivientes al final de la prueba, fue siempre positivo en *E. faecalis*. Sin embargo, los embriones del grupo control no mostraron ninguna lesión y no se re-aislaron *E. faecalis*, lo cual indica que el experimento fue fiable y la mortalidad embrionaria fue causada únicamente por la infección y no por agentes externos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo permiten considerar que, utilizando la dosis de infección apropiada, la ELA puede usarse como un modelo experimental *in vivo* para predecir la capacidad de virulencia de cepas de *E. faecalis*.

La DL_{50} de la cepa de *E. faecalis* K923/96 (5,7 cfu/ml) proporciona una base de referencia para futuros estudios.

Para poder corroborar la capacidad de la ELA para discriminar entre cepas virulentas y cepas no virulentas de *E. faecalis*, se han de realizar más ELAs con diferentes cepas de *E. faecalis*.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutor, el Prof. Dr. y Dr. Carlos Buxadé Carbó, su amistad e incondicional ayuda; a la empresa Lohmann Tierzucht GmbH la oportunidad que me ha brindado para poder desarrollar el doctorado y al Dr. A.R. Sharifi su colaboración y apoyo en el análisis estadístico de los datos.

BIBLIOGRAFÍA

- Borst, L. B., Suyemoto, M. M., Keelara, S., Dunningan, S. E., Guy, J. S. & Barnes, H. J. 2014. Avian Disease, 58, 244-248.
- Gibbs, P. S., Maurer, J. J., Nolan, L. K. & Wooley, R. E. (2003a). Avian diseases, 47(2), 370-379.
- Gibbs, P. S. & Wooley, R. E. (2003b). Avian diseases, 47(3), 672-680.
- Landman, W. J. M., Van Den Bogaard, A. E. J. M., Doonenbal, P., Tooten, P. C. J., Elbers, A. R. W. & Gruys, E. (1998). Amyloid: The International Journal of Experimental and Clinical Investigation, 5, 266-278.
- Nix, E. B., Cheung, K. K., Wang, D., Zhang, N., Burke, R. D. & Nano, F. E. (2006). Infection and immunity, 74(8), 4809-4816.
- Petersen, A., Christensen, H., Philipp, H. C., & Bisgaard, M. (2009). Veterinary microbiology, 134(3), 392-395.
- Rudolph, B. (2004). PhD Thesis. Berlin University, Germany.
- SAS Institute Inc. (2011). SAS/STAT 9.3 User's Guide. Cary, NC. SAS Institute Inc..
- Seo, H. S., Cha, S. Y., Kang, M. & Jang, H. K. (2013). Avian Pathology, 42(4), 387-392.
- Stewart-Tull, D. E. S., Coote, J. G., Thompson, D. H., Candlish, D., Wardlaw, A. C. & Candlish, A. (2009). Journal of medical microbiology, 58(5), 546-553.
- Townsend, M. K., Carr, N. J., Iyer, J. G., Horne, S. M., Gibbs, P. S. & Prüß, B. M. (2008). BMC microbiology, 8(1), 12.
- Wooley, R., Gibbs, P., Brown, T. & Maurer, J. (2000). Avian Diseases, 44, 318-324.



BENEFITS OF USING CHP IN FOOD INDUSTRY

Igea Gracia, Francisco Javier

Tutor: González González, María Trinidad;

Departamento de Lingüística aplicada a la ciencia y a la tecnología, E.T.S.I.A.A.B. Universidad Politécnica de Madrid.

javier.igea.gracia@gmail.com

ABSTRACT

In the food and beverage industry, cogeneration plants are widely used, representing 142 cogeneration plants in Spain and 1257 MW of installed power. Many industries use cogeneration plants with either gas engines or turbines to cover their steam, hot water, cooling and electrical demands. To obtain a complete utilisation of the cogeneration plant, a constant demand on heat and power is necessary.

Combined Heat and Power (CHP) is a highly effective technique that saves energy by producing heat and electricity at the same time. Some examples of benefits of using CHP are: cost savings for the energy consumer, reduced reliance on imported fossil fuels, lower CO₂ emissions and reduced investment in energy system infrastructure.

Key words: *CHP, efficient energy use, food industry*

INTRODUCTION

In today's world, cogeneration is becoming an increasingly important option to consider when designing and delivering new plants in the food and beverage manufacturing industry. Consumers are spending more on highly processed, energy intensive products such as pre-cooked meats, frozen food, prepared meals, sugar, beer and wine, whiskey, dairy products, preserved food and candy.

Many food processing sectors make ideal candidates for CHP. However, utilization of CHP technology is not widespread in the food processing industry at this time. It is significant that in a sector with many small and medium companies, there are only 13 small cogeneration plants (less than 1 MW). So, there is a development opportunity for the Spanish productive industry that could be promoted for small and medium companies.

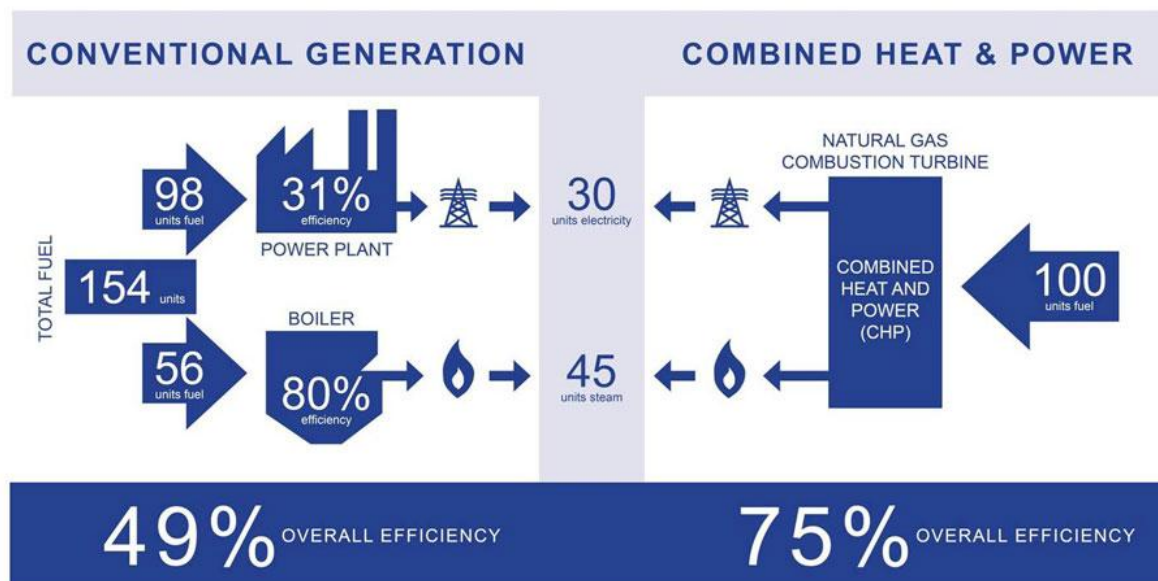
10 benefits of using CHP in the food industry

The high efficiency of a CHP plant compared with conventional bought in electricity and site-produced heat provides a number of benefits including the next 10 examples, focusing in Spanish food industry:

1. Higher Overall efficiency

Cogeneration in the food industry, as simultaneous energy production of heat, cold and electricity, is a clear example of high efficiency, reaching an overall average efficiency of over 75%, which means an efficiency by nearly 20% higher than that achieved, for example, in the most modern conventional power plants. Moreover, CHP plants are typically embedded close to the end user and therefore help reduce transportation and distribution losses, improving the overall performance of the electricity transmission and distribution network.

Figure 1. CHP Systems have higher overall Efficiency than separate electric and thermal systems. Source: University of Minnesota.



2. Turning Waste into energy

The food industry has significant development opportunities in the field of using waste biomass and cogeneration. The proposal of the Renewable Energy Plan (PER 2012-2020) places the Food and Beverage sector among the most significant in terms of consumption of biomass and their possible use and growth.

In addition, the Renewable Energy Plan has estimated a total potential biogas waste from the food industry of 430.000 MWh, which can be effectively transformed into electricity and useful heat through cogeneration.

Biogas can be produced from several by-products such as molasses, olive pits, shelled nuts, orange pulps, fats and organic agricultural waste.

3. Advance climate change and environmental goals by reducing emissions of CO2 and other pollutants

The environmental benefits are significant, as CO2 emissions are drastically reduced due to lower consumption of fossil fuels. That is why CHP is fully part of the sustainable energy policy, in line with the objectives of the European Union "20-20-20" and with other Community provisions for environmental protection.

Emissions of carbon dioxide, and air pollutants like nitrogen oxide, sulphur dioxide and volatile organic particles can be substantially reduced with CHP. These emissions contribute to serious environmental problems, including global climate change, acid rain, haze, acidification of waterways, and eutrophication of critical estuaries.

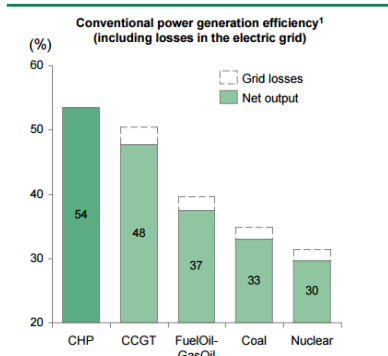
Associated with the use of cogeneration, the Spanish food and beverage industry save 2 million tons of CO2, which at current prices represents save 10 million euros.

In the food Industry, emissions of greenhouse gases are linked to 99% of energy use, with very low gas emissions of food processing. For this reason reducing the use of fossil fuels results in the reduction of greenhouse gases. Moreover, natural gas is cleaner than others fuels and has the lowest CO2 emissions per energy unit.



Figure 2. Energy efficiency by type of power generation. The Boston consulting Group. December 2010.

CHP has the highest energy efficiency in power generation...



4. Trigereneration

Trigereneration or combined cooling, heat and power (CCHP), is the process by which some of the heat produced by a cogeneration plant is used to generate chilled water for air conditioning or refrigeration.

Absorption refrigeration systems offer some advantages versus conventional refrigeration: During cold seasons, the heat can be utilised to cover heat requirements. Also absorption chillers have no moving parts, so there is no wear and maintenance costs are low. Operation is noiseless operation and has low operating costs and lifecycle costs. Moreover, using water as a refrigerant replaces the use of ozone damaging substances.

5. Economic

CHP has a very positive direct economic impact for the country, with benefits of more than €1,300M a year derived from its energy advantages.

Table 1. Installed Capacity, Production of Electricity / Heat and Fuel Consumption in Spain. "BOLETÍN DE ESTADÍSTICAS ENERGÉTICAS DE COGENERACIÓN. AÑO 2013.

	Number of Units	Total Electrical Power (MW)	Gross Electricity Production (GWh)	Net Heat Production (TJ)	Fuel Consumption (TJ)		
					Imputable to Heat	Imputable to Electricity	TOTAL
Food industry, farming industry and tobacco	151	1 257.1	4 709.7	22 330.2	25 909.5	29 061.6	54 971.1

6. Earnings by selling excess energy

If the cogeneration units produce more than the operator is capable of consuming, the excess can be supplied to the distribution network or sold to a customer that a contract has been signed with, which can lead to additional income.

7. Job creation

The use of CHP systems creates direct jobs in manufacturing, engineering, installation, ongoing operation and maintenance. In addition, CHP projects create indirect jobs in the CHP industry's supply chain and other supporting industries.

The development of "PLAN DE ACCIÓN NACIONAL DE ENERGÍAS RENOVABLES DE ESPAÑA (PANER) 2011 – 2020" will allow an accumulated investment of over 10,000 M



€, and will generate 25,000 jobs in the sector. (<http://www.acogen.es/cogeneracion-espana.php>.)

8. Increased competitiveness

Energy bill savings and earnings by selling excess energy provided by CHP systems can be reinvested to support facility expansion and other capital projects, to hire or retain workers, or in other initiatives that enhance competitiveness.

9. Optimisation of heat and electricity production

The user himself can regulate the production of heat and electricity according to his requirements from the location of consumption or by remotely controlling the cogeneration.

10. Social responsibility

By adopting cogeneration, Food and Beverage industry companies can demonstrate their environmental responsibility, critical in maintaining a positive image within the world's business and consumer communities.

CONCLUSIONS

The focus of this study was to document the benefits of using CHP in food industry. Although we cannot see CHP in our shopping cart, the leading Spanish food industry companies, such as Nestlé, Campofrío, DyC, El Pozo, Puleva, Pascual, García Baquero, Cargill o Roquette Laisa, Pescanova and Damm all use CHP to supply their own heat demands.

CHP systems offer significant efficiency, environmental and economic benefits which include but are not limited to the points mentioned above.

BIBLIOGRAPHY

Assessment of Benefits Associated with CHP Development in Spain, December 2010, The Boston Consulting group.

J. Bassols, B.Kuckelkorn, J.Langreck, R.Schneider, H.Veelken. 2001 TRIGENERATION IN THE FOOD INDUSTRY 5, 6291 BC Vaals.

Clarke energy, Benefits of trigeneration <https://www.clarke-energy.com/gas-engines/trigeneration>

Cogeneration Combined Heat And Power Solutions For A Sustainable Future. Power Generation.

Cogeneración en la Industria Española de Alimentación y Bebidas, Informe Acogen, octubre 2011.

Cogeneration in food and beverage manufacturing by Steve Edwards BSc (Hons), PhD, GradDipMgt (Tech Mgt), GAICD, DipEntMgt, pitt&sherry.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, 2008 Combined Heat and Power: Evaluating the benefits of greater global investment. OECD/IEA.

Karla enegize, benefits of cogeneration taken from: <http://www.karlaenergize.com/en/about-cogeneration/benefits-of-cogeneration>.

Vignesh Gowrishankar, Christina Angelides, Hannah Druckenmiller, April 2013, NRDC issue paper. Combined heat and power systems: Improving the Energy Efficiency of Our Manufacturing Plants, Buildings, and Other Facilities.

W. Wongrat O. Yuksel Orhan E. Alper J. Massicotte, D. Meyer, Y. Sung and A. Elkamel. "Integrating a Cogeneration System in Food Process Manufacturing ".Proceedings of the 2014 International Conference on Industrial Engineering and Operations Management Bali, Indonesia, January 7 – 9, 2014. <https://facm.umn.edu/sites/facm.umn.edu/files/efficiency-graphic.jpg>



DISEÑO DE UN CENTRO DE CAPACITACIÓN AGRÍCOLA EN LOUKOLELA (REPÚBLICA DEL CONGO)

Fernández Castro, León

Tutor: Hernández Díaz-Ambrona, Carlos Gregorio

Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid
leon.fernandez8@gmail.com

RESUMEN

Este proyecto se ha llevado a cabo en Loukoléla, Departamento de la Cuvette, República del Congo. Se ha desarrollado dentro del programa “Mejora de la productividad agrícola en Loukoléla” promovido por la Fundación “Carmen Rodríguez Granda”, en colaboración con el Grupo de Cooperación RISE (Red de Ingeniería Solidaria y Educativa) y el apoyo del Grupo Agsystems, de la Universidad Politécnica de Madrid, junto con la contraparte local *Fondation “Granda Rodríguez”*. Consiste en el diseño y planificación de un centro de capacitación agrícola. Se ha desarrollado en dos fases, la primera, identificación, realizando un estudio previo de la situación para reconocer las necesidades y problemáticas de la población (realizado en terreno entre febrero y junio de 2014); y la segunda el diseño y desarrollo del centro de capacitación. En la fase de identificación se realizaron 100 entrevistas a la población local y reuniones con autoridades y otros agentes implicados, para conocer las necesidades, problemática y circunstancias para desarrollar un modelo de formación acorde con las mismas. Al mismo tiempo se realizó un “Prototipo de huerta escuela” mediante el cual se analizó que cultivos hortícolas se adaptan a la zona y como sería la metodología de capacitación. El diseño y desarrollo del centro de formación, tras el análisis socio-económico de la comunidad y las circunstancias de la zona, se ha resuelto mediante la creación de módulos de formación independientes, con una duración determinada y que se podrán compaginar con la actividad habitual del participante.

Palabras clave: *cooperación al desarrollo, desarrollo rural, enseñanza, formación*

INTRODUCCIÓN

La República del Congo se sitúa en África Central, localizada sobre el ecuador, tienen un clima ecuatorial con una temperatura media anual de 23 °C y precipitaciones medias anuales de 1800 mm. El Congo ocupa el puesto 140 de 187 países en la clasificación del Índice de Desarrollo Humano (IDH) con un valor de 0,591 en 2014, según el Informe del PNUD (Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo) de 2015 (Jahan, 2015). Con una población de 4,5 millones en 2014, un 46,5% vive por debajo del umbral de la pobreza y aumenta a un 75,6% en zonas rurales. Las principales causas del lento desarrollo son: la turbulenta historia del país, con una transición con problemas de planificación centralizada, junto con la mala gestión económica, basada en el petróleo, golpes militares y un brutal conflicto durante los años 1990 y dificultades de comercialización.

Respecto a las zonas rurales, la situación es más deficiente (1,2 millones de pobres rurales) siendo las mujeres las más afectadas, con la agricultura y la pesca como medio de subsistencia, la inexistencia de microfinanzas, la baja productividad agrícola como resultado de métodos tradicionales y uso ineficiente de insumos e infraestructuras muy deficientes (escaso acceso a agua y electricidad), caminos y canales inexistentes o en mal estado y un elevado coste del transporte.

El Distrito de Loukoléla, está formado por 35 pueblos y 36 aldeas repartidas por 11000 km², tiene una población de 24000 habitantes (Sous-Prefet de Loukolela, 2012). Loukolela Centre es el pueblo principal, con 8000 habitantes, situado a la orilla del río Congo, haciendo frontera con la República Democrática del Congo (RDC), a 520 km de la



capital Brazzaville y con acceso únicamente por vía fluvial. La población es de diversas etnias, también hay un elevado número de refugiados ruandeses (600) y de la RDC (300). La esperanza de vida aproximada es de 50 años para los hombres y 70 años para las mujeres, la familia suele tener una media de siete u ocho hijos. Respecto a las infraestructuras del pueblo, no cuentan con electricidad y el agua potable se reparte dos veces por semana, existen algunas pistas sin asfaltar y caminos agrícolas que conectan con otras aldeas cercanas, la mayoría de las casas son de barro y madera y no tienen saneamiento. Los principales medios de vida son la agricultura y la pesca. La pesca se practica de forma tradicional principalmente por los hombres, mientras las mujeres se dedican al trabajo de campo y a todas las labores del hogar, la agricultura es totalmente rudimentaria, se basa en el cultivo de la mandioca (*Manihot esculenta*), el cebollino (*Allium schoenoprasum*) y la banana (*Musa x paradisiaca*) y en menor medida la palma aceitera (*Elaeis guineensis*), el aguacate (*Persea americana*), el mango (*Mangifera indica*), el safou (*Dacryodes edulis*) y la recolección de frutos y plantas silvestres.

TIPOLOGÍA Y NATURALEZA DEL PROYECTO

El presente trabajo fin de carrera (Fernández, 2016) se encuadra dentro de los proyectos de cooperación al desarrollo, ha sido realizado gracias a la “Ayuda de viaje en Cooperación para el desarrollo para prácticas formativas fin de carrera, grado o máster” en la convocatoria de 2014, de la Universidad Politécnica de Madrid. Fue realizado entre febrero y junio de 2014, en Loukolela (República del Congo).

El objetivo general del proyecto fue mejorar las condiciones de vida de los habitantes de Loukolela, a través del refuerzo de sus capacidades, mediante cursos de capacitación, fundamentalmente prácticos. Objetivos específicos fueron: introducir nuevas prácticas en agricultura para aumentar la productividad de los cultivos, diversificar la producción y permitir que los beneficiarios puedan desempeñar la actividad agrícola de manera independiente y sostenible, generar una renta para la transición de una agricultura de subsistencia a una agricultura sostenible. Para lograrlo se contó con el apoyo técnico de una organización especializada en agricultura y en financiero de la Fundación “Carmen Rodríguez Granda”.

DIAGNÓSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL

Se analizó la situación local en materia de agricultura, la realidad social para adaptar el proyecto a las necesidades sociales y a la realidad de los posibles beneficiarios y actores implicados. Se hicieron 100 entrevistas. Para realizar el análisis se dividió en grupos de población: hombres y mujeres congoleños, población juvenil y refugiados ruandeses, también se mantuvo un contacto directo con las autoridades locales, agrupaciones agrícolas y otras organizaciones locales. Del diagnóstico se obtuvo el análisis DAFO (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis DAFO de la población para el proyecto de diseño de una escuela de capacitación agrícola en Loukoléla (República del Congo).

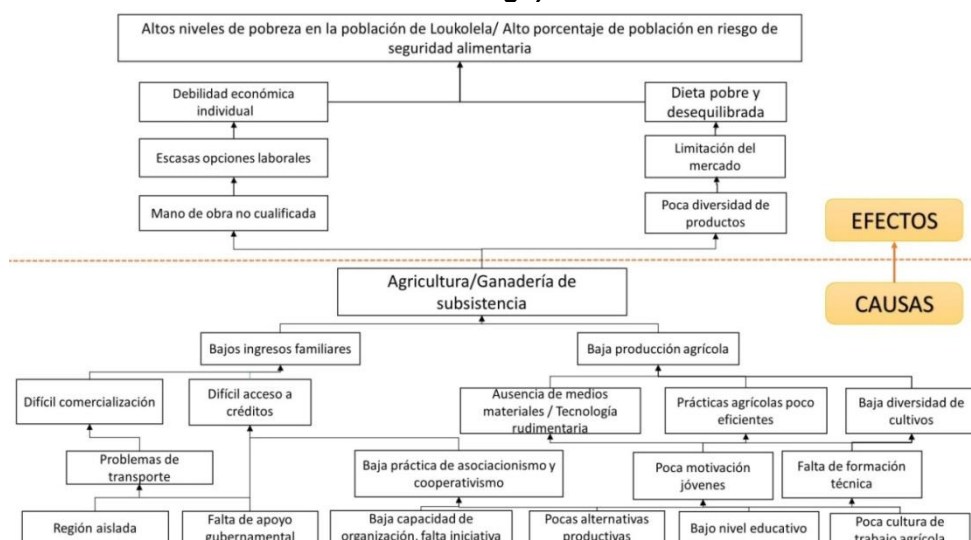
FORTALEZAS	DEBILIDADES
Adaptación a las necesidades y circunstancias locales Gran número de beneficiarios potenciales Implicación contraparte local “Fondation Granda Rodríguez” Apoyo autoridades locales e iglesia católica Alineamiento con políticas de desarrollo nacionales	Agricultura de subsistencia, poca dedicación a la agricultura y diversidad de cultivos Independencia agricultores, baja capacidad de organización y trabajo en equipo Pocos medios materiales Falta de respaldo de instituciones
OPORTUNIDADES	AMENAZAS
Gran potencial agrícola en la zona (Disponibilidad de terrenos y condiciones favorables) Creciente interés de la población por la agricultura y atracción por mejorar sus capacidades Posibilidad de optar a subvenciones y ayudas para la ejecución del proyecto Desarrollo de fuentes de ingreso alternativas y mejora del poder adquisitivo	Zonas de cultivo poco trabajadas Deficiencia de infraestructuras (Transporte, agua, electricidad) Bajo nivel educativo, escasa capacidad de iniciativa Debilidad económica de la población rural e insuficiencia de recursos financieros Bajo conocimiento agrícola

Enfoque de marco lógico



Basándose en los problemas observados: altos niveles de pobreza y alto porcentaje de la población en riesgo de inseguridad alimentaria (Figura 1), se construyó un árbol de objetivos, se analizaron las posibles alternativas y se realizó una matriz de marco lógico. En dicha matriz se incluyeron objetivos generales y específicos así como los resultados esperados y las actividades para llevar a cabo.

Figura 6: Árbol de problemas de la situación de la población de Loukoléla (República del Congo)



Diseño de la escuela de formación agrícola

Finalmente la alternativa seleccionada fue la creación de un centro de formación agrícola, donde se impartirán cursos independientes, en los cuales se formará en nuevas prácticas agrícolas, cultivos poco comunes en la zona y técnicas para aumentar la productividad de los sistemas productivos. Las características de los cursos son: eminentemente prácticos, basados en la máxima “aprender haciendo”, se adaptarán a las condiciones climáticas, las sesiones tendrán una duración máxima de tres horas para poder conciliar con su vida cotidiana, se procurará en la medida de lo posible que los instructores y técnicos sean locales, los alumnos pagarán una cantidad simbólica para generar mayor compromiso. Se incentivará la participación mediante la donación de herramientas y/o terrenos, y asistencia para aquellos que continúen con la actividad productiva, durante el curso se les facilitará todo el material necesario para que puedan reproducir las lecciones aprendidas.

Cursos propuestos

En la tabla 2 se muestran los cursos propuestos, se elaboró un cronograma y un presupuesto estimado de forma conjunta con el jefe del sector agrícola del distrito (Elion Paul) y otros expertos en agricultura del municipio. También se incluyó una partida para la gestión del centro. Los ingresos corresponderían a las tasas académicas (que varían en función del curso y a la venta de los productos de la finca de prácticas, la diferencia con los gastos de cada curso serían sufragados por los fondos de la Fundación.

CONCLUSIONES

La ejecución del centro de capacitación puede suponer un gran avance para la agricultura en la zona y generar fuentes de ingresos para las personas más desfavorecidas. Se prevé capacitar 250 personas/año. La capacitación por persona tiene un coste medio de 75 €, reduciendo los ingresos previstos con la realización del curso (5000 €), el coste medio por participante sería de 56 €. La modalidad de los cursos permite que se puedan realizar en función de la financiación disponible, y llevarse a cabo cuando se disponga del presupuesto estimado.



Tabla 2: Resumen de cursos propuestos dentro de la escuela de capacitación agrícola en Loukolela (República del Congo)

CURSO	POBLACIÓN BENEFICIARIA (Nº de alumnos)	OBJETIVOS	DURACIÓN	PRESUPUESTO APROXIMADO
Cultivo de arroz	Jóvenes desempleados, personas con bajos ingresos (20)	Dotar de conocimientos y herramientas para producir arroz de manera rentable y eficiente.	5-6 meses	Gastos 4720 € Material agrícola: 1800 € Material didáctico: 120 € Recursos humanos: 2800 € Ingresos: 3100 €
Horticultura	Mujeres agricultoras, con pocos recursos (30)	Capacitar en todas las tareas y labores del cultivo de productos hortícolas, tales como, berenjena, tomate, repollo, pepino, sandía, zanahoria y judías y hortalizas locales.	6 meses	Gastos: 2850 € Materiales: 1750 € Material didáctico: 200 € Recursos humanos: 900€ Ingresos: 800 €
Huerto escuela	Niños y jóvenes (80)	Sensibilizará la población (curso lectivo educación primaria) para fomentar la agricultura en la zona y motivar a los jóvenes a emprender actividades agrícolas	9 meses (Septiembre-Junio)	Gastos: 3410 € Materiales: 735 € Material didáctico: 175 € Recursos humanos: 2500€ Ingresos: 200 €
Avicultura	Personas con pocos recursos económicos (15)	Capacitar en el manejo de aves, principalmente para producción de huevos y realizar un programa de transferencia tecnológica para mejorar las condiciones de vida de pequeños productores, generando una alternativa productiva.	14 meses	Gastos: 7000 € Instalaciones y equipos: 4200 € Funcionamiento: 500 € Material didáctico: 150 € Recursos humanos: 2150 € Ingresos: 780 €
Creación y gestión de cooperativas	Población general, interés en participación de mujeres (50)	Promover el cooperativismo como base del desarrollo de comunidades rurales enfocados en la agricultura y comercialización de productos.	3 meses	Gastos: 400 € Material didáctico: 150 € Recursos humanos: 250 € Ingresos: 75 €
Buenas prácticas agrarias	Población en general, agricultores... (Dependiendo de la sesión)	Cubrir algunas deficiencias y malas prácticas instauradas en la zona y mostrar determinadas prácticas más eficientes y sostenibles para mejorar los rendimientos.	5 meses	Gastos: 800 € Materiales: 300 € Material didáctico: 100 € Recursos humanos: 400 € Ingresos: 0 €

AGRADECIMIENTOS

A la población de Loukoléla, por su apoyo y trato recibido durante la estancia, a Carmen Rodríguez Granda, por el gran trabajo y dedicación sin pedir nada a cambio. A RISE, por permitirme formar parte del proyecto y Isabel Barajas, compañera de trabajo. A Carlos Hernández por su ayuda como tutor del proyecto. A mis amigos y familia por su afecto y ayuda. A Teresa por el cariño y apoyo que ha demostrado siempre.

BIBLIOGRAFÍA

Jahan S. 2015. "Informe sobre Desarrollo Humano 2015. Trabajo al servicio del desarrollo humano" Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) Nueva York, EEUU
Sous-Prefet de Loukolela. 2012. "Etat de lieu du district de Loukoléla" Ministère de l'intérieur et de la décentralisation, Loukolela
Fernández L. 2016. "Diseño de un centro de capacitación agrícola en Loukolela (República del Congo)" Grupo de cooperación RISE y Agsystems, UPM, Madrid.

SESIÓN PÓSTERS



INVESTIGACIÓN MEDIOAMBIENTAL EN UNA GRANJA VIRTUAL

Ventas, Alicia; Muñoz, Daniel; Gordo, Sergio

Tutores: Villamide, M^a Jesús

Departamento de Producción Agraria. E.T.S. Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid
alicia.ventas.navalon@alumnos.upm.es; daniel.mherraes@alumnos.upm.es; s.gordo@alumnos.upm.es

RESUMEN

Se ha realizado un estudio sobre una granja virtual (www.granjadevacas.es) de vacas de producción de leche dividida en dos lotes de similar productividad, a las que se han suministrado distintas raciones. Se han analizado los efectos de cada dieta sobre la producción y calidad de leche comparándolos dos a dos. Posteriormente, se ha procedido a la realización de los cálculos de los parámetros ambientales: eficiencia nitrogenada, producción de deyecciones y metano, así como coste de la alimentación/100 kg de leche. Esto ha permitido obtener conclusiones sobre cual o cuales de las dietas son mejores para alcanzar el óptimo resultado en los parámetros estudiados. Se tendrá en cuenta cual es la dieta que guarda mejor el equilibrio entre los efectos ambientales, la producción y el coste que implica.

Palabras clave: *granja virtual, producción de leche, ambiental.*

INTRODUCCION

Se ha realizado un trabajo de investigación basado en un programa informático que recrea la situación de una granja de vacas de producción de leche de manera virtual (www.granjadevacas.es). Debido a la experiencia de trabajo con este programa llevado a cabo en la asignatura de Producción Ganadera y Medioambiente se despertó el interés en este formato, ya que se consideró una forma de aprendizaje externo a lo meramente académico que puede proporcionar una experiencia muy favorable en el ámbito profesional. El programa es un simulador que cuenta con un número determinado de vacas lecheras instaladas en una granja, dependientes de parámetros e incidencias propias de una granja real.

El objetivo de este trabajo es analizar la influencia que puede tener el tipo de dieta proporcionada, sobre ciertos indicadores productivos y medioambientales como son la producción y calidad de leche, emisiones de metano, producción de deyecciones, eficiencia de utilización del nitrógeno en vacas de producción láctea.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este trabajo experimental se creó una granja de 100 vacas que se manejó siempre de la misma manera y se llevó a cabo el suministro de distintas dietas que se proporcionaron durante un periodo de siete días ya que se había comprobado que la respuesta virtual era estable, para poder observar los resultados productivos y estimar los medioambientales. En primer lugar se distribuyeron las vacas en dos grupos homogéneos, ya que simultáneamente en cada granja solo se pueden suministrar dos dietas. Para ello se ordenaron las vacas por su producción de leche y cada dos vacas se repartió una a cada grupo (Grupos A y B). Las vacas que no están en la etapa de lactación se eliminaron del grupo. Los grupos fueron estables a lo largo de las distintas pruebas. La primera dieta ("control"), equilibrada en cuanto a energía y proteína, se utilizó por ser la predeterminada por el simulador. A continuación se suministró una segunda dieta llamada "dieta proteica", a la cual se le había aumentado la proteína en dos puntos (un 13%), que coexistió con la dieta control durante otro periodo experimental.



Posteriormente se dispensó una tercera dieta llamada “energética” en la cual se aumentó la concentración energética un 3% incrementando la cantidad de cereal, por ser un producto más energético y disminuyendo ligeramente los niveles de proteína con respecto a la dieta proteica, con la que se comparó. Por último se quiso estudiar el efecto de aumentar la cantidad de alimento suministrado con respecto a la dieta control inicial. Esta dieta (“más alimento”) supuso un aumento de la cantidad de forrajes y subproductos, alimentos más baratos que los originales, en los que se quiso comprobar la relación entre el menor coste/kg que suponía su adquisición y el efecto sobre la producción de leche. En la tabla 1 se encuentran los datos correspondientes a las cantidades de producto de cada dieta, su valor nutritivo, el precio estimado/kg y el precio de la ración diaria.

Tabla 1. Composición en ingredientes (kg MS) de las dietas suministradas, total de kg aportados, composición energética (Energía Neta leche, ENI Mcal/kg MS) y proteica (% proteína bruta) y precio/kg y por ración de la dietas experimentales

Alimentos de la dieta	Control	Proteica	Energética	Más alimento
Silo maíz	10	8	8	12
Heno de alfalfa	2	2	1	2
Harina de Maíz	4	4	6	2
Cebada	2	3	2	2
Harina de soja	2	3	3	2
Bagazo de cerveza	2	2	2	5
Total kg	22	22	22	25
ENI (Mcal/kg)	1,64	1,69	1,74	1,6
PB (%)	15,5	17,6	17	17
Precio (€/kg)	0,190	0,199	0,208	0,175
Coste (€/vaca y día)	4,18	4,39	4,59	4,38

Para calcular la producción de metano producida por las vacas, se utilizó la ecuación de Storm et al. (2012) que tiene en cuenta la proporción de forraje además del nivel de ingestión de la dieta, expresado como kg de materia seca (MS) ingerida:

$$\text{Metano (MJ/d)} = 10,3 \times \text{forraje} + 0,87 \times \text{MSingerida (kg/d)} + 1,1$$

En cuanto a la producción de purines usamos la ecuación de Nennich et al. (2005):

$$\text{Excreción purines} = \text{MSingerida (kg/día)} \times 2,63 + 9,4$$

El coste de producción por 100 litros de leche se ha realizado dividiendo el coste del alimento consumido por cada vaca de una misma dieta ($\times 100$), partido entre la cantidad de litros producidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se observa que las características productivas de los dos grupos experimentales de vacas obtenidos tras la simulación del suministro de la dieta control son muy similares.

Una vez realizados los cálculos pertinentes, se llega a la obtención de las tablas de resultados, en la que se encuentran los parámetros necesarios para el control de la producción láctea y el de las emisiones y residuos que puedan ser medioambientalmente perjudiciales. En la Tabla 3 están representados los resultados obtenidos de la comparación entre la dieta control y proteica.



Tabla 2. Resultados productivos medios por vaca de los dos grupos experimentales consumiendo una dieta control

	Grupo A	Desv. Tip	Grupo B	Desv. Tip
Ingestión de alimento (Kg MS/d)	21,26	3,0	21,51	2,7
Producción leche (kg/d)	33,06	7,9	33,69	7,2
% Grasa leche	3,63	0,3	3,71	0,2
% Proteína láctea	3,01	0,3	3,08	0,3
Días en lactación	127	93,1	153	94,5

Tabla 3. Comparación de resultados productivos medios por vaca y día y medioambientales de las vacas alimentadas con una dieta control o proteica

	Control	Proteica	Desv.Tip
Producción leche (kg/d)	33,45	33,57	8,0
% Grasa leche	3,64	3,70	0,3
% Proteína láctea	3,02	3,09	0,3
Coste alimentación (€/100 kg leche)	12,5	13,1	1,6
Producción purines (kg/d)	66,07	65,86	7,6
N retenido en leche (kg/d)	0,161	0,165	0,04
N ingerido (kg/d)	0,534	0,604	0,07
Eficiencia Nitrogenada	0,299	0,270	0,036
Metano (Mcal/d)	6,09	5,85	0,6
Metano (% ENI ingerida)	17,3	16,2	0,6
Metano (Mcal/100 kg leche)	18,8	18,1	2,9

Las diferencias debidas a la dieta son muy escasas debido a la variación individual de las vacas de cada grupo, es decir a la desviación típica, lo que sugiere que no hay diferencias significativas entre las dietas en ninguna de las comparaciones realizadas. El coste de la alimentación aumenta un 5% con la dieta proteica y la eficacia proteica disminuye un 10%, ya que el N retenido en la leche se mantiene, mientras que el ingerido aumenta un 13%. Sin embargo, se observa que a mayor cantidad de forraje suministrado en la dieta, mayor es la producción de metano (4% en comparación con la dieta proteica), por lo que debería reducirse el forraje si se quiere reducir las emisiones de este gas. En la Tabla 4 se comparan la dieta proteica con la energética. Los resultados relacionados con la producción son mejores en la dieta "proteica" (12% mayor producción de leche y 4% más grasa láctea) y los ambientales (producción diaria de purines y metano) mejores en la dieta "energética". Pero si estos parámetros ambientales los expresamos por kg de leche, la dieta energética da mayores emisiones (2,02 y 2,22 kg de purín/kg leche, 18,9 y 20,5 Mcal de metano/100 kg de leche, en la dieta proteica y energética, respectivamente). Además el coste de la alimentación de la dieta energética es un 14% superior.

Tabla 4. Comparación de resultados productivos medios por vaca y día y medioambientales de las vacas alimentadas con una dieta proteica o energética

	Proteica	Energética	Desv.Tip
Producción leche (kg/d)	33,17	29,10	8,8
% Grasa leche	3,39	3,25	0,4
% Proteína láctea	3,06	3,04	0,3
Coste alimentación (€/100 kg leche)	13,85	15,74	2,72
Producción purines (kg/d)	67,42	64,65	7,55
N retenido en leche (kg/d)	0,161	0,14	0,04
N ingerido (kg/d)	0,62	0,57	0,079
Eficiencia Nitrogenada	0,257	0,243	0,046
Metano (Mcal/d)	5,97	5,64	0,59
Metano (% ENI ingerida)	16,5	16,4	0,51
Metano (Mcal/100 kg leche)	18,9	20,46	4



En la Tabla 5 se comparan la dieta control frente a la “más alimento”. La producción de leche aumentó un 9% con el suministro de “más alimento” y aunque el coste diario de la alimentación es un 5% superior, cuando se expresa/100 kg de leche es un 11% inferior. A pesar de la mayor cantidad de N retenido en forma de leche, la eficiencia nitrogenada disminuyó un 7%, y por tanto el N excretado o emitido/kg de leche fue superior en la dieta “más alimento” (13 g) respecto a la control (12 g de N/kg leche). Desde el punto de vista ambiental la dieta “más alimento” supone una mayor producción de purines y metano diario, pero expresado por producción de leche los resultados favorecen esta dieta con mayor cantidad de forrajes y subproductos fibrosos que no perjudican directamente al suministro para la alimentación humana. Las diferencias observadas entre distintas tablas para la misma dieta son debidas al efecto periodo (días de lactación).

Tabla 5. Comparación de resultados productivos medios por vaca y día y medioambientales de las vacas alimentadas con una dieta control o más alimento

	Control	Más alimento	Desv.Tip
Producción leche (kg/d)	33,27	36,18	8,25
% Grasa leche	3,65	3,69	0,25
% Proteína láctea	3,03	3,05	0,3
Coste alimentación (€/100 kg leche)	13,3	11,8	1,65
Producción purines (kg/d)	68,93	72,18	8,501
N retenido en leche (kg/d)	0,16	0,175	0,037
N ingerido (kg/d)	0,561	0,649	0,084
Eficiencia Nitrogenada	0,28	0,26	0,033
Metano (Mcal/d)	6,31	6,61	0,67
Metano (% ENI ingerida)	17	16,9	0,6
Metano (Mcal/100 kg leche)	19,7	18,8	3

CONCLUSIONES

La dieta más rentable económicamente y que favorece la mayor producción es la “más alimento” y la de mayor eficacia nitrogenada, la control. Los resultados medioambientales no son concluyentes y dependen de su expresión diaria o por kg de leche producida.

BIBLIOGRAFÍA

Nennich T.D., Harrison JH, VanWieringen L.M, Meyer D., Heinrichs A.J., Weiss W.P., St-Pierre N.R., Kincaid R.L., Davidson D.L, Block E. 2005, J. Dairy Sci., 88, 3721-3733.
Storm, I.M.L.D., Hellwing, A.L.F., Nielsen, N.I., Madsen J. 2012, Animals 2, 160-183
www.granjadevacas.es (consultada febrero a abril de 201



CAFÉ: CULTIVO Y ANALISIS SENSORIAL

Nieto Camacho, José

Tutores: González González, María Trinidad; Salto-Weis Azevedo, Isabel

Departamento de Lingüística aplicada a la Ciencia y la Tecnología E.T.S.I. Agrónomos.

Universidad Politécnica de Madrid

nieto1903@hotmail.com

RESUMEN

El póster tiene como objetivo explicar la importancia de las **etapas del cultivo** de café hasta la obtención del producto final y por qué existe una relación de estos factores en la valoración sensorial en taza.

Abordaremos la influencia de diferentes factores, como la variedad botánica, cultivo, clima, secado y procesado de la semilla.

Se explicarán las **diferencias sensoriales** más relevantes entre los cafés más demandados mundialmente, como son Colombia, Brasil, Etiopía y la diferencia sensorial respecto a los cafés comerciales.

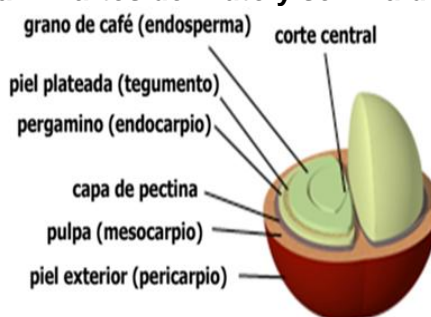
Aprenderemos a diferenciar un café "bueno", y los motivos que lo justifican. Y a modo de curiosidad, explicaremos como se cata una taza de café en el mundo "gourmet".

LA SEMILLA DE CAFE

Describimos el café como: un árbol (cafeto) del género *Coffea*, que da el fruto que permite elaborar el café. Pertenece a la familia de las Rubiáceas (*Rubiaceae*).

Los granos de café o semillas están contenidos en el fruto del árbol, los cuales en estado de madurez toman un color rojizo (variedades rojas) o amarillento (variedades amarillas) y reciben el nombre de "cereza". El fruto está compuesto por: endospermo, tegumento o piel plateada, endocarpio, mesocarpio y pericarpio.

Figura 1. Partes del fruto y semilla del café



Cuando realizamos una infusión de café, lo que nosotros tostamos primero y preparamos después es el endospermo o comúnmente lo que llamamos, semilla.

Dependiendo del tipo de café que busquemos (más amargo, ácido...) le daremos un tipo de tueste determinado o no, si lo que buscamos es un café amargo, le daremos un proceso de tueste largo a unos 220 °C y 12-13 min buscando un color tirando al marrón-negro y por el contrario buscamos cafés más ácidos, son tuestes más livianos en el tiempo.

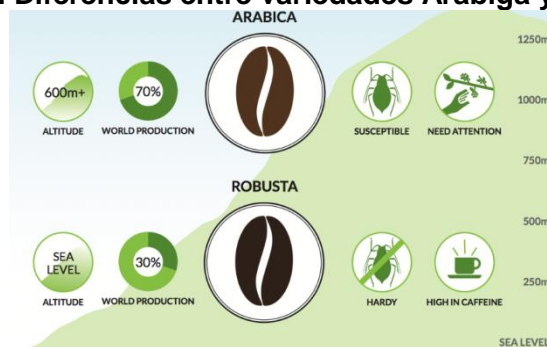
Lo normal es buscar un tueste medio, en el que el color es marrón y obtenemos un compendio organoléptico, ni muy ácidos ni muy amargos.



Es muy importante la variedad a parte del proceso de tueste, nos va a determinar cómo va a resultar la infusión de café, por ello cabe destacar las variedades más significativas dentro del mercado mundial de café.

Cabe diferenciar las principales especies más representativas en cuanto a producción mundial dentro del género *Coffea*: tenemos la variedad Arábica y Robusta.

Figura 2. Diferencias entre variedades Arábica y Robusta



Fuente: www.divinocafe.com

CULTIVO DE CAFÉ

El ciclo de cultivo del café se inicia con la germinación de las semillas tras 45-50 días de la siembra, 15 días después empiezan a salir las primeras hojas.

En cuanto a la recolección, un ejemplo es Colombia, debido a la topografía montañosa, la recolección se hace manualmente. En una misma rama de arbustos de café pueden encontrarse bulbos que se convertirán en flores, flores formadas, y frutos en diferente estado de maduración. Con el propósito de mejorar la calidad, los recolectores solo recogen los granos maduros (aquellos que ya están preparados para ser recolectados). La recolección es manual para mantener una calidad óptima del grano, debido a que se van seleccionando los granos uno a uno.

Tras la recolección el grano de café se somete a un proceso de transformación con el objetivo de extraer el grano del fruto. Este proceso recibe el nombre de Beneficiado. Puede ser de dos vías, húmeda (llamado así por demandar uso de agua durante el proceso) y seca (proceso que se desarrolla para obtener los llamados cafés naturales que son cosechados y secados, separando después las envolturas del grano por medio de la operación llamada trilla).

DIFERENCIAS SENSORIALES MÁS CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES VARIEDADES DE CAFÉ

La evaluación sensorial es el análisis de los alimentos por medio de los sentidos. Desde el punto de vista de la normativa española vigente, también se podría definir como: el examen de propiedades organolépticas de un producto realizable con los sentidos (UNE 87-001-94 Análisis sensorial: Vocabulario).

-Brasil Altitud: 1.200 m. Proceso/elaboración: Para extraer la semilla se utiliza el beneficio natural. Notas de cata: Muy intenso con notas de cacao y fruto seco, complejo en boca, sabroso, dulce, acidez media-baja, buen cuerpo, muy carnoso."

-Colombia Altitud: 1.700m. Variedad: Típica, Caturra, Bourbon. Proceso/elaboración: Recogido manualmente, fermentado y secado al sol. Notas de cata: Es un café que



combina aromas afrutados, con un acentuado sabor marcado por una nota de acidez natural, y una agradable y prolongada persistencia aromática.

-Etiopía: Altitud: 1.500 m. Extracción por beneficio natural. Notas de cata: Delicado en tueste, notas de fruta roja, caramelo, almendra y vainilla. Redondo, levemente especiado, muy dulce, afrutado, cuerpo excelente y buena acidez.

La principal diferencia respecto a los cafés comerciales que podemos encontrar en cualquier supermercado o gran superficie de consumo, es la variedad, suelen ser cafés de variedad Robusta, dando lugar a una percepción en taza menos pronunciada, daran lugar cafés más amargos, con menos aromas y sabores.

Un factor a tener en cuenta en taza, es el grado de tueste del grano de café, un tueste bajo dara lugar a cafés más ácidos, con un tueste medio obtendremos un tueste “equilibrado” y con un tueste alto, donde las Reacciones de Maillard se pronunciarán, en taza obtendremos cafés con alto nivel de amargor.

Y por último, un factor que pasa desapercibido, y que si no se tiene en cuenta rompe la cadena de calidad y cuidado del producto, es la preparación de la infusión de café. Debe tenerse un cierto rigor de limpieza con la máquina, que la leche no supere una temperatura de 70°C , la cantidad de café que echamos al cazo son factores que pasan de largo y que pueden echar a perder el esfuerzo del cultivo, trazabilidad y almacenado del café.

PASOS PARA UNA CATA DE CAFÉ

<p><i>Preparación de la muestra</i></p>	<p><i>Preparación de la mesa de cata</i></p>
<p><i>Comienzo de la cata</i></p>	<p><i>Romper la taza y cata de las muestras</i></p>

CONCLUSIONES

Para poder disfrutar de una buena taza de café, como consumidor debemos fijarnos en la variedad (Arábica), debido a la variedad organoléptica que ofrece respecto a la variedad



Robusta. En cuanto al modo de preparación, y concienciarnos, de que, tras una simple taza de café, hay todo un elaborado proceso de siembra, cultivo, recolección y tratamiento para obtener una infusión de café óptima.

AGRADECIMIENTOS

Todo el trabajo realizado no hubiera sido posible sin la colaboración y cooperación desinteresada de ciertas personas. Es por ello, que quiero agradecer a estas personas la ayuda y tiempo prestados durante el periodo que ha durado la elaboración de este trabajo.

En primer lugar, me gustaría agradecer al departamento de Departamento de Lingüística aplicada a la Ciencia y la Tecnología por su colaboración y a mis tutoras de trabajo María Trinidad González González e Isabel Salto Weis Azevedo por su orientación, esfuerzo y dedicación.

BIBLIOGRAFÍA

Morten C. Meilgaard, Gail Vance Civille y B. Thomas Carr (2007) "Sensory Evaluation Techniques, Fourth Edition. Taylor & Francis" Stone, H., J. Sidel, S. Oliver, A. Woosley y R. C. Singleton (1974) "Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. Food Technol."

Amerine, M.A., R.M. Panborn, E.B. Roessler. 1965. Principles of sensory evaluation of food. In: Food Science and Technology Monographs. pp.338-339. Academic Press, New York.

Julián Briz Escribano, Rafael García Faure (2004) "Análisis Sensorial De Productos Alimentarios. Metodología y Aplicación A Casos Prácticos" Mapa 2ª Edición.

WWW.CENICAFE.ORG / www.supracafé.com / www.divinocafe.com

UNE 87-001-94 Análisis sensorial: Vocabulario



ANALYSIS OF EMERGING CONTAMINANTS IN ORYZA SATIVA BY ULTRASOUND ASSISTED-MATRIX SOLID PHASE DISPERSION AND GC-MS

Aznar, Ramón¹

Tutors: Tadeo, José Luis¹; Vallejo, Antonio²

¹Departamento de Medio Ambiente, INIA, Carretera de la Coruña, Km. 7, Madrid, Spain.

²Departamento de Química y Tecnología de los Alimentos. Escuela de Ingenieros Agrónomos.

Universidad Politécnica de Madrid.

aznar.ramon@inia.es

ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa*) represents the third-highest worldwide agricultural commodity of and is mostly grown in aquatic environments, since it has an enormous demand for water. Nowadays, emerging contaminants (ECs) are commonly found in water bodies, which may be used to irrigate fields. Hence, we present a multiresidue method for the simultaneous determination of 31 emerging contaminants (pharmaceutical compounds, hormones, personal care products, biocides and flame retardants) in rice plants. Analytes were extracted by ultrasound assisted-matrix solid phase dispersion (UA-MSPD) and determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The method was satisfactorily validated with good recoveries at concentrations of 100 and 25 ng g⁻¹, wet weight, ranging from 71 to 120%, and low limits of detection and quantification (0.3 to 2.2 ng g⁻¹ and 1.0 to 6.7 ng g⁻¹, wet weight, respectively). A good linearity was obtained in the range of 1 to 400 ng g⁻¹, with correlation coefficients ≥ 0.994 for all the compounds studied.

Keywords: *emerging contaminants, oryza sativa, UA-MSPD*

INTRODUCTION

Following the Environmental Protection Agency (EPA) definition, emerging contaminants are any synthetic or naturally occurring chemical that are not commonly monitored in the environment, but have the potential to enter the environment and cause known or suspected adverse ecological and (or) human health effects (<http://toxics.usgs.gov/regional/emc/>). The family of emerging contaminants (ECs) includes compounds such as biocides, pharmaceutical, hormones, personal care products and flame retardants, among others.

Because of the enormous demand of water to produce rice (*Oryza sativa*) in Mediterranean conditions, different sources of water with poor quality are being used (wastewater), which may contain ECs (Esteban et al., 2014; Petrie et al., 2015). The concern of ECs being uptaken by rice plants and the role that they play in a marsh area need to be assessed. Thus, there is a need for multiresidue methods (containing the most relevant ECs of each family) to give a better understanding of the current situation. Thus, a method to detect different emerging contaminants in fresh rice plants is presented.

MATERIAL AND METHODS

Standards and reagents. Standards of bifenthrin, fenpropathrin, λ -cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, α -cypermethrin, τ -fluvalinate, esfenvalerate, deltamethrin, triclosan and methyl triclosan (purity > 99%) were supplied by Riedel-de Haën (Seelze, Germany). Standards of estrone, hexestrol, diethylstilbestrol, ibuprofen, gemfibrozil, fenoprofen, naproxen, mefenamic acid, ketoprofen, carbamazepine, fenofibrate, nonylphenol, bisphenol A (BPA), benzophenone-3 (BP3), BDE-47, BDE-100, methyl paraben and propyl paraben (purity > 97%), were purchased from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Tris(2-carboxyethyl)



phosphine (TCEP) and tris(2-chloroisopropyl) phosphate (TCPP) were obtained from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Ethyl acetate (EtAc), acetonitrile (ACN), residue analysis grade, ammonium hydroxide (NH_4OH) $\geq 32\%$ and Silica Bondesil-C18, particle diameter of 40 μm for purification were purchased from Varian (Palo Alto, CA, USA). Florisil 150-250 μm (60-100 mesh), was supplied by Aldrich (Steinheim, Germany) and magnesium sulfate anhydrous (MgSO_4) was purchased from Merck (Darmstadt, Germany). The derivatization agent N-(tert-butyldimethylsilyl)-N-methyl-trifluoroacetamide (MTBSTFA, purity $\geq 95\%$) with 1% tert-butyldimethylchlorosilane (TBDMCS) and formic acid were obtained from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA).

Plant material. Samples of *Oryza sativa* (rice) were taken from the Albufera natural park (Valencia, Spain) within an area irrigated with pure artesian water. Plants were maintained in darkness at 4 °C and transported to the laboratory where representative portions of the aerial part of the selected plants were ground using a food processor and kept at - 20 °C until analyses. These samples, after preliminary screenings, did not show any of the target compounds included in this work and were used as controls.

Sample preparation. Ultrasound assisted-matrix solid phase dispersion (UA-MSPD) was used mixing 1 g of rice plant with 4 g of Florisil and 2 g of MgSO_4 in a glass mortar. Then the mixture was blended with a glass pestle for 5 min to yield a homogeneous material and placed in a 20 mL glass column (10 cm x 20 mm I.D., from Becton-Dickinson, Madrid, Spain) over 2 paper filters (Whatman No. 1 paper circles of 2 cm diameter, Maidstone, UK) at the end with 2 g of MgSO_4 . EtAc with 3% NH_4OH (8 mL) was added to each column and 2 mL were used to wash the mortar and pestle. Columns were sonicated for 15 min in an ultrasonic water bath (Raypa, Barcelona, Spain) at room temperature. The water level in the bath was adjusted to equal the extraction solvent level inside the columns, which were supported upright in a tube rack and closed with one-way stopcocks. Then extracts were collected in tubes using a multiport vacuum manifold (Supelco, Visiprep, Madrid) and evaporated near dryness. The extraction was repeated twice with 5 mL ACN containing 4% formic acid to ensure the complete extraction of the acidic target compounds (e.g. mefenamic acid). The extract was evaporated to 1 mL using a Genevac EZ-2 evaporator (purchased from NET Interlab, Spain) before the cleanup step, where the plant extracts (1 mL) were cleaned through a 5 mL glass column (Normax, Lisbon, Portugal) with 2 paper filter (Whatman No. 1, Maidstone, UK) containing 1 g of MgSO_4 and 1 g of C18. Analytes were eluted with 5 mL of ACN and extracts were collected in tubes using a multiport vacuum manifold, evaporated to dryness and reconstituted to 0.5 mL with ACN. Derivatization prior to the GC-MS determination to increase their volatility. Thus, 50 μL of MTBSTFA: TBDMCS (99:1, v/v) plus an aliquot (100 μL) of the plant extract were transferred into a 2 mL reaction vial with a micro insert. Vials were closed and the mixture left to react for 1 h at 70 °C before the GC-MS analysis (Aznar et al., 2016) (Table 1).

Table 1. Operational conditions of Gas chromatography-mass spectrometry.

GC conditions:		
Carrier gas	Helium at 1.2 mL min ⁻¹	
Solvent-vent	2 µL, 50 °C (0.1 min) → 600 °C min ⁻¹ → 300 °C (5 min)	
Column	ZB-5MS (5% phenyl polysiloxane), 0.25 mm i.d. 30 m Film thickness: 0.25 µm	
Column temperature	50 °C (2.6 min) → 20 °C min ⁻¹ → 300 °C (5 min), Total 20.1 min	
MS conditions:		
Ionization mode	electron impact ionization (70 eV)	
Ion source temperature	230 °C	
Quadrupole temperature	150 °C	
Solvent delay	10.5 min	
Detection mode	Selected ion monitoring (SIM)	



Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Analysis was performed with an Agilent 6890 (Waldbronn, Germany) gas chromatograph equipped with a mass spectrometric detector, model HP 5977A. The operational conditions of GC-MS are summarized in Table 1.

The list of the compounds studied along with their retention times and selected ions (to be used in SIM mode) are shown in Table 2. The target and qualifier abundances were determined by injection of standards under the same chromatographic conditions using full-scan with the mass/charge ratio ranging from 50 to 550 m/z . The compounds were confirmed by their retention times, the identification of target and qualifier ions and the determination of qualifier to target ratios. Retention times had to be within ± 0.1 min of the expected time and qualifier-to-target ratios within a 20% range for positive confirmation. The quantification was accomplished by matrix-matched calibration.

Table 2. Retention times and selected ions (m/z) of the compounds studied.

Compound	SIM parameters				Compound	SIM parameters			
	t_R (min)	T	Q1	Q2		t_R (min)	T	Q1	Q2
Methyl Paraben	11.27	209	210	266	Carbamazepine	14.95	193	194	293
TCEP	11.38	249	250	63	BDE-47	15.16	486	326	488
TCPP	11.57	125	99	277	Fenofibrate	15.19	121	273	139
Ibuprofen	11.85	263	264	117	λ -Cyhalothrin	15.24	197	181	208
Propyl Paraben	12.15	237	238	294	Permethrin	15.74	183	163	165
Methyl Triclosan	13.38	302	304	252	BPA	15.7	441	442	456
Nonylphenol	13.38	334	277	278	BDE-100	15.92	404	406	566
Gemfibrozil	13.45	243	179	307	Cyfluthrin	16.06	163	206	226
Fenoprofen	13.68	299	197	206	Hexestrol	16.35	249	250	337
BP3	14.11	285	242	286	α -Cypermethrin	16.41	163	165	181
Naproxen	14.13	287	185	288	Diethylstilbestrol	16.5	496	497	498
Triclosan	14.34	347	345	200	τ -Fluvalinate	17.09	250	252	181
Mefenamic acid	14.64	298	224	355	Estrone	17.1	327	384	328
Ketoprofen	14.65	311	295	105	Esfenvalerate	17.2	125	167	181
Bifenthrin	14.8	181	165	166	Deltamethrin	17.74	181	253	251
Fenpropathrin	14.87	125	181	265					

t_R : Retention times; T: target ion; Q1 and Q2: qualifier ions

In order to evaluate the method developed for the detection of ECs in rice plants, different quality parameters were studied: recoveries, repeatability and linearity following the International Conference on Harmonization (ICH) guidelines (ICH, 1997).

RESULTS AND DISCUSSION

The validation of the optimized procedure was carried out in order to ensure adequate identification, confirmation and quantification of the target compounds. Some parameters, such as linearity, accuracy (expressed as recovery), precision, LOD, LOQ and matrix effect, were studied. Plants were spiked with the analytes at two levels (25 and 100 ng g^{-1}) (Table 3), to study the recoveries and the accuracy of the method, where satisfactory recoveries were obtained for most of the compounds ranging from 71 to 120%.

The precision of the method was evaluated in terms of repeatability (intra-day precision) at 100 and 25 ng g^{-1} . The results were expressed as % RSD (six replicates), where repeatability was lower than 10% (Table 3). To evaluate the sensitivity, the limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the developed method were determined using ten replicates of plant extracts, spiked at 2.5 ng g^{-1} . The equation to calculate the LOD was the following: $\text{LOD} = t_{99} \times S$, where t_{99} is the Students' value for a 99% confidence level and $n-1$ degrees of freedom and S is the standard deviation of the replicate analyses. The LOQ was calculated as 10 times the standard deviation of the LOD. As can be seen in Table 3, low limits of detection and quantification were achieved (0.3 to 2.2 ng g^{-1} and 1.0 to 6.7 ng g^{-1} wet weight, respectively).



Table 3. Recoveries (%) and relative standard deviations ($n=6$, % in parenthesis) and limits of detection and quantification (LOD, LOQ, ng g^{-1}) in rice plants.

Compound	Recoveries (%)		LOD	LOQ	Compound	Recoveries (%)		LOD	LOQ
	100	25				100	25		
Methyl paraben	75 (5)	81 (6)	0.8	3.0	Carbamazepine	85 (5)	79 (3)	0.3	1.0
TCEP	90 (3)	73 (3)	1.2	4.2	BDE-47	90 (4)	74 (3)	0.3	1.0
TCEP	99 (3)	74 (6)	0.8	2.8	Fenofibrate	94 (3)	80 (4)	0.5	1.6
Ibuprofen	120 (7)	112 (9)	0.8	2.8	λ -Cyhalothrin	91 (3)	101 (8)	0.8	2.7
Propyl paraben	78 (6)	74 (10)	1.1	3.8	Permethrin	92 (5)	86 (5)	0.7	2.3
Methyl triclosan	86 (4)	73 (5)	1.5	5.3	BPA	97 (5)	70 (5)	0.9	3.0
Gemfibrozil	81 (9)	71 (4)	0.8	2.7	BDE-100	91 (4)	86 (4)	0.3	1.0
Nonylphenol	98 (2)	80 (3)	0.7	2.5	Cyfluthrin	90 (7)	96 (6)	0.3	1.0
Fenoprofen	87 (5)	74 (6)	1.0	2.9	Hexestrol	99 (2)	77 (4)	0.9	3.1
BP3	120 (5)	71 (6)	0.4	1.4	α -Cypermethrin	91 (3)	95 (8)	0.9	3.1
Naproxen	99 (3)	75 (2)	1.0	3.3	Diethylstilbestrol	77 (2)	72 (3)	2.2	6.7
Triclosan	99 (2)	78 (3)	0.6	1.9	τ -Fluvalinate	86 (5)	92 (9)	0.4	1.2
Mefenamic acid	80 (8)	79 (3)	0.9	3.1	Estrone	107 (9)	89 (7)	0.4	1.2
Ketoprofen	98 (9)	73 (2)	2.1	6.3	Esfenvalerate	95 (7)	92 (8)	1.4	4.2
Bifenthrin	88 (6)	75 (4)	0.7	2.5	Deltamethrin	85 (8)	89 (5)	1.2	4.0
Fenpropathrin	95 (4)	71 (2)	0.6	2.1					

Finally, to evaluate the linearity and matrix effects, two sets of calibration solutions were prepared in the range from 1 to 400 ng g^{-1} , with correlation coefficients ≥ 0.994 for all the compounds studied (one set was solvent-based and the other spiking blank plant extracts at the same concentrations). There are several approaches to counteract matrix-induced effects but due to the high price and the nonexistence of internal standards for some of the 31 emerging contaminants studied, matrix-matched calibration was selected in order to overcome the matrix effects observed and to improve accuracy in the quantification of samples.

CONCLUSIONS

The developed method allows the determination of ECs at trace levels in rice plant samples. Ultrasonic assisted –matrix solid dispersion extraction, with a clean-up on a C18 - MgSO_4 mixture, was used in the analysis of the plants samples.

The analytical procedure showed good recoveries and sensitivity for the determination of these compounds in plants.

ACKNOWLEDGMENT

Authors wish to thank INIA for the predoctoral fellowship (R. Aznar) and Spanish Ministry of Economy and Competitiveness RTA2014-00012-C03-01 for financial support and Beatriz Albero and Consuelo Sánchez-Brunete for their contribution to this work.

BIBLIOGRAPHY

- Aznar R., Albero B., Sanchez-Brunete C., Miguel E., Martín-Girela I., Tadeo J.L. 2016. Environ. Sci. Pollut. Res. (Article in Press)
- Esteban S., Gorga M., Petrovic M., Gonzalez-Alonso S., Barceló D., Valcarcel Y. 2014. Sci. Total Environ., 466: 939-951.
- International Conference on Harmonisation (ICH). 1997. Q2B: Validation of Analytical Procedures: Methodology. 4-14.
- Petrie B., Barden R., Kasprzyk-Hordern B. 2015. Water Res., 72: 3-27.
- <http://toxics.usgs.gov/regional/emc/>, Accessed 08/08/2015



ENFERMEDAD DE POMPE

Daza García, Jesús; Nieto García, Paula; Ilinca, Malina Carmina

Tutor: González Guerrero Manuel¹;

¹ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid
j.daza@alumnos.upm.es, paula.nieto.garcia@alumnos.upm.es malina.ilinca@alumnos.upm.es

RESUMEN

La enfermedad de Pompe es una enfermedad poco frecuente que consiste en la acumulación de glucógeno en los lisosomas debido a la mutación del enzima α -glucosidasa ácida (GAA) que es la encargada de degradarlo en dichos orgánulos. Esta vía es minoritaria, por ello los pacientes no sufren otros problemas relacionados con el metabolismo glucosídico. Las dos variantes clínicas (juvenil y tardía) de la enfermedad presentan diferente sintomatología y desarrollo en función de la edad y la gravedad de la mutación. En ambos casos la enfermedad es letal. Actualmente afecta a cualquier etnia y no tiene cura aunque los investigadores han desarrollado tratamientos para intentar combatirla. El principal tratamiento se basa en la terapia de reemplazo enzimático, que consiste en introducir por vía sanguínea la enzima funcional obtenida mediante técnicas de ingeniería genética

Palabras clave: enfermedad de Pompe, glucógeno, reemplazo enzimático.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Pompe (o glucogenosis tipo II) es una enfermedad metabólica poco frecuente, progresiva y letal. Está causada por la acumulación de glucógeno en múltiples tejidos por la ausencia o disminuida funcionalidad de la enzima α -glucosidasa ácida (GAA), encargada de degradar glucógeno en los lisosomas. Esto afecta principalmente al músculo esquelético, neuronas y al músculo cardíaco. Esta enfermedad fue identificada en 1932 por el patólogo Joannes Cassianus Pompe en una niña con grave debilidad muscular cuya autopsia mostró una masiva acumulación de glucógeno en diferentes tejidos.

METABOLISMO DEL GLUCÓGENO

El glucógeno es un polímero de glucosa (maltosa) que se encuentra principalmente en el hígado y en el músculo esquelético formando gránulos. En los gránulos de glucógeno encontramos, además, las enzimas que lo sintetizan o degradan. La ventaja de almacenar glucosa es que nos permite obtener energía más rápidamente que de la grasa y, a diferencia de ésta, no necesita oxígeno para poder obtener energía.

En condiciones normales, el glucógeno es degradado mediante la acción de la glucógeno fosforilasa. Además de esta enzima, para la completa degradación del glucógeno, es necesario que actúe la enzima desramificante.

Existe, por otra parte, una vía minoritaria en la que el glucógeno es degradado en el lisosoma mediante enzimas denominadas glicosidasas, entre las que se encuentra la GAA (Robert Geddes y Gregory C. Stratton. 1976). La GAA degrada el glucógeno que llega a los lisosomas, liberando glucosa que luego es exportada a través del lisosoma. Puesto que la vía típica de degradación del glucógeno no está alterada, las personas que padecen la enfermedad de Pompe no tienen problemas de glucemia, sino que las alteraciones se producen por la acumulación de glucógeno en los lisosomas.

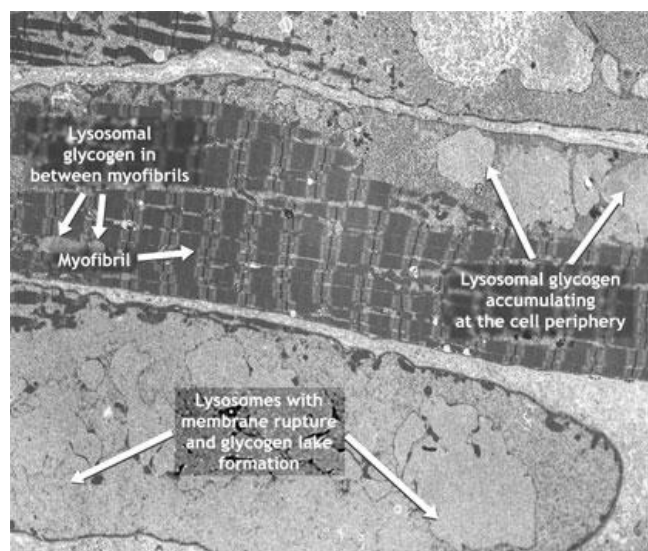
El glucógeno de los lisosomas no puede ser degradado, y se acumula en estos orgánulos. Aunque la acumulación se da en todas las células, afecta principalmente a



células musculares, neuronas y tejido muscular cardíaco por ser tejidos que requieren mucha energía y que cuentan con numerosos lisosomas.

La continua acumulación de glucógeno no degradado provoca un aumento de tamaño de los lisosomas, resultando en daño celular, que progresivamente provoca la degeneración del órgano o tejido hasta llegar a perder su función totalmente.

Imagen 1: Microscopía electrónica de una fibra muscular dañada por la enfermedad de Pompe.



Fuente: https://www.pompe.com/en/-/media/Pompe/Images/Charts/en-US/cell_pompe_affected.jpg

SÍNTOMAS Y CUADRO CLÍNICO

Existen dos formas clínicas en función de la edad de comienzo y el desarrollo que sigue la enfermedad (Majed D., Omar J., Mamatha P. et al. 2015):

-Variante infantil: típicamente se manifiesta a los pocos meses de haber nacido. En este caso la actividad enzimática es muy baja o inexistente, con acumulación de glucógeno ya prenatalmente, por lo que la progresión de la enfermedad suele ser más rápida.

-Variante tardía (juvenil o adulta): puede presentarse en cualquier momento, desde la infancia hasta la edad adulta. La tardía aparición indica que el grado de actividad enzimática es mayor y por tanto la progresión de la enfermedad es más lenta aunque menos previsible.

Síntomas: debilidad muscular progresiva, corazón agrandado y cardiomiopatía, dificultad para respirar, hígado agrandado, dificultad para tragar y masticar. Por lo general, su desarrollo mental no se ve afectado. La mayoría de los pacientes, sin importar la edad de aparición de los síntomas, experimentarán un lapso de vida más corto con relación a la población general debido a la progresión de la enfermedad.

Los pacientes con la forma infantil de la enfermedad tienen fallos cardiorrespiratorios alrededor del primer año de vida.

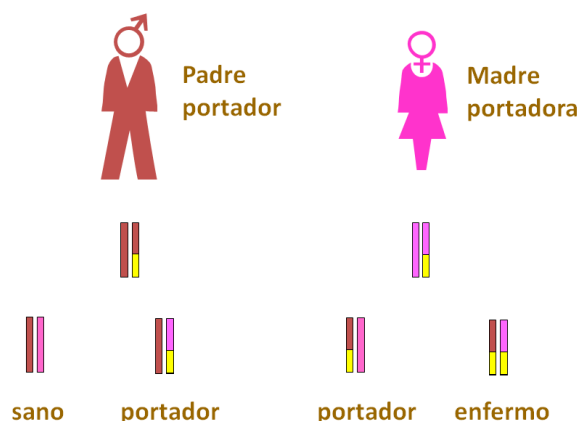
No hay certeza de cuántas personas padecen la enfermedad de Pompe en el mundo pero según los datos disponibles se calcula que la padecen entre 5.000 – 10.000 personas. Actualmente, la enfermedad afecta a todos los grupos étnicos. Sin embargo, en algunos grupos la enfermedad de Pompe presenta índices más altos, como por ejemplo la población infantil afro-americana. En España afecta a unas 400 personas, con 100 casos diagnosticados.

HEREDABILIDAD



El gen GAA se encuentra en el brazo largo del cromosoma 17 (Edward J. Cupler et. al. 2013). Es una enfermedad autosómica recesiva, que solo se expresa en homocigosis. De forma que la única posibilidad de que un individuo padezca la enfermedad es que sus padres sean ambos portadores de la misma; es decir, que tengan mutado el gen GAA. Aun cuando los padres sean ambos portadores de la mutación, la probabilidad de que conciban un hijo enfermo es de un 25%.

Imagen 2: Herencia de la enfermedad de Pompe
Herencia autosómica recesiva



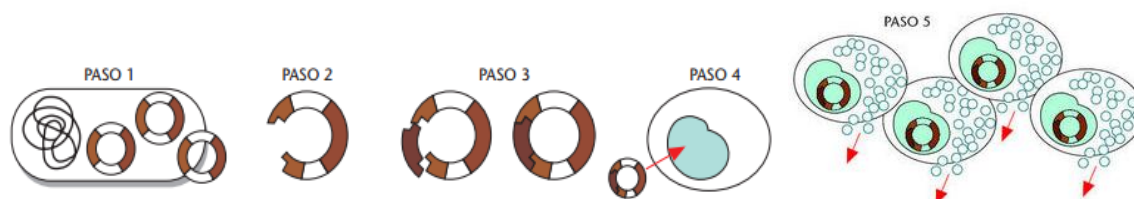
TRATAMIENTO

Al tratarse de una enfermedad genética producida por la deficiencia de la ya citada GAA, el tratamiento de la enfermedad incluye cuidados paliativos. Estos tratamientos se centran en llevar una dieta baja en carbohidratos y rica en proteínas, para reducir al mínimo la producción de glucógeno y su acumulación. Sin embargo, estos tratamientos no frenan la progresión de la enfermedad ni reparan los daños ya causados por esta.

Un tratamiento probado con éxito en humanos es la **terapia de reemplazo enzimático** (Phillip A. et al 2016). Está basada en la inoculación de la enzima GAA funcional de manera que supla la carencia o deficiencia de la enzima del enfermo. Esta enzima es inoculada en sangre y llega a las células musculares gracias a que reconoce sus receptores específicos. Una vez en el interior de las células viaja a los lisosomas donde cataliza la hidrólisis de glucógeno lisosomal.

En la producción de esta enzima se emplean técnicas biotecnológicas: el gen que codifica para la GAA humana es introducido en un plásmido bacteriano mediante endonucleasas (PASOS 1-3), posteriormente este plásmido es introducido en un cultivo celular de células de ovario de hámster chino (PASO 4) que actúan de anfitrionas para la producción de la enzima que es posteriormente secretada al medio externo (PASO 5).

Imagen 3: Inserción del gen de la enzima en las células del cultivo



Fuente: <http://es.slideshare.net/MarinAlejandra/trangnicos-y-tecnologia-del-d-na-recombinante>



Sin embargo la terapia de reemplazo enzimático presenta un grave problema: el desarrollo de anticuerpos contra la enzima exógena inoculada en sangre. Aquellos pacientes que eran capaces de generar pequeñas cantidades de la enzima, aunque fuera mutada y no funcional, presentan menores niveles de anticuerpos y por tanto menores niveles de rechazo que aquellos que son del todo incapaces de producir la enzima. Por ello la terapia de reemplazo enzimático debe ir acompañada de un tratamiento para frenar la producción anticuerpos. Actualmente esta terapia se aplica y es el principal método para combatir la enfermedad de Pompe.

Otra línea de investigación se basa en el empleo de **chaperonas moleculares** (Okumiya T et al 2007). Las chaperonas se unirían a la GAA para ayudar en su plegamiento, ensamblaje y transporte celular a los lisosomas, donde se alcanzarían, entonces, niveles de actividad biológica propios de las personas sanas. Este tipo de terapia solo serviría para aquellas personas que produjeran la enzima GAA no funcional. Esta terapia se encuentra en fase de ensayo clínico y podría ser utilizada junto con la terapia de reemplazo enzimático para mejorar la estabilidad de la GAA.

También se han desarrollado otras terapias génicas encaminadas a conseguir que el organismo vuelva a producir GAA por sí solo (Cresawn KO et al 2005). Para ello se emplea un vector vírico capaz de infectar células y de insertar en estas el gen que codifica la GAA. Este virus infecta concretamente a las células hepáticas para que sean capaces de sintetizar la enzima y distribuirla por todo el organismo.

Esta terapia ha sido probada con éxito en animales y representa un modelo con gran potencial para tratar a los pacientes afectados. Sin embargo, presenta problemas relacionados con el desarrollo de una respuesta inmunitaria contra el vector vírico introducido, la peligrosidad de este vector y la permanencia de los genes en el organismo sin que sean eliminados.

CONCLUSIONES

La enfermedad de Pompe es una enfermedad genética que, al afectar a una ruta metabólica tan importante como la degradación del glucógeno, provoca una sintomatología muy severa aún a pesar de que solo afecte a una enzima secundaria del proceso. Las nuevas técnicas de ingeniería genética mediante las cuales se consigue una enzima funcional están permitiendo curar esta enfermedad, anteriormente considerada como fatal.

AGRADECIMIENTOS

Dra. Ana Belén Peinado Lozano

BIBLIOGRAFÍA

- Cresawn KO et al 2005. Impact of humoral immune response on distribution and efficacy of recombinant adeno associated virus-derived acid alpha-glucosidase in a model of glycogen storage disease type II".
- David D. Fuller, Mai K. ElMallah, Barbara K. et al. 2014. The respiratory neuromuscular system in Pompe disease.
- Edward J. Cupler, Kenneth I. Berger, Robert T. Leshner, et al. 2013. Consensus treatment recommendations for late-onset pompe disease.
- Enfermedad de Pompe; <http://genzyme.es> (18/3/2016).
- Glucosidase, alpha, acid; gaa; <http://omim.org/entry/606800> (12/3/2016).
- Glycogen storage disease II; <http://omim.org/entry/232300> (12/3/2016).
- Majed D., Omar J., Mamatha P. et al. 2015. Pompe Disease: Literature Review and Case Series.
- Okumiya T. et al (2007). Chemical chaperones improve transport and enhance stability of mutant alpha-glucosidases in glycogen storage disease type II",
- Phillip A. Doerfler, Sushrusha N., Roland W. Herzog et al. 2016. Targeted approaches to induce immune tolerance for Pompe disease therapy.
- Pompe disease; <http://genzyme.es> (18/3/2016).
- ROBERT GEDDES and GREGORY C. STRATTON. 1976. The Influence of Lysosomes on Glycogen Metabolism.



EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE FUENTES DE ESTRUCTURA FIBROSA EN DIETAS DE POLLOS EN CRECIMIENTO, SOBRE PARAMETROS PRODUCTIVOS Y DESARROLLO DE MOLLEJA

Medina Plana, Jesús Alberto¹

Villamide, María Jesús²; Navarro Villa, Alberto¹

¹Trouw Nutrition R&D - Poultry Research Centre, Casarrubios del Monte, 45950 Toledo, Spain

²Departamento de Producción Agraria E.T.S.I.A, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid
jesus.medina@trouwnutrition.com

RESUMEN

Se investigó la influencia del 3% de inclusión de fuentes fibrosas (Cascarilla de Avena, Cascarilla de Soja, Algarroba, Pulpa de Remolacha, Paja de Trigo, Cascarilla de Arroz y Salvado de Trigo) en piensos de pollos a base de trigo-soja, sobre el rendimiento productivo y desarrollo de la molleja. Se formularon 8 dietas experimentales que se distribuyeron aleatoriamente en una nave de broilers con 80 boxes de 52 machos Ross 308 /box, obteniendo 10 réplicas /tratamiento. Se siguió un programa de alimentación de 3 fases, de 0-14, 14-28 y 28-36 días. Esta inclusión, tuvo distinto efecto dependiendo de la fuente de fibra utilizada. Así, el índice de conversión fue mejorado un 1% ($P < 0.001$) en dietas con Cascarilla de Avena ($IC = 1.51$) sin diferencias en los demás parámetros. Por contra, las aves alimentadas con dietas con Algarroba, tuvieron peores conversiones (1.54 , $P < 0.001$) que el tratamiento Control (dieta sin materias primas fibrosas) (1.52), sin afectar el desarrollo de la molleja. Los pollos alimentados con Pulpa de Remolacha presentaron un desarrollo de la molleja superior en un 30% al del Control, pero al contrario que con Cascarilla de Avena, mostraron menor consumo y ganancia de peso diaria ($P < 0.001$), afectando al peso vivo final (2% menor que el Control). Ninguna de las demás materias primas causó diferencias significativas ningún parámetro. Podemos concluir que el uso de Cascarilla de Avena sería interesante a nivel comercial, pero, se descarta el uso de Pulpa de Remolacha y Algarroba. El uso de las demás materias primas fibrosas, solo sería recomendable si disminuyese el coste de la alimentación.

Palabras Clave: *ingredientes fibrosos, molleja, rendimiento.*

INTRODUCCION

Generalmente, la industria de la producción de piensos compuestos ha tendido a realizar moliendas relativamente finas de las materias primas que componían el pienso para broilers, y se aceptaba que las moliendas más finas aumentaban la digestibilidad de la dieta. Sin embargo esto ha sido cuestionado recientemente por varios autores (Sacraïne et al, 2012) que evidenciaron que el broiler moderno es capaz de asimilar dietas con altos contenidos en partículas groseras o fibrosas, mejorando rendimientos sin aparentes efectos negativos en el crecimiento y mejorando los rendimientos del animal.

Es conocido el papel fundamental de la molleja en la función digestiva del animal, siendo el director principal de los movimientos y tiempos de la digesta a través del tracto, con lo que esto supone, para el mejor aprovechamiento de los nutrientes del alimento. Así un mayor desarrollo de la molleja con el aporte de estructuras fibrosas, genera indirectamente una mejora en la función digestiva de todo el tracto del animal.

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto del 3% de inclusión de fuentes de estructura fibrosa en piensos de pollos a base de trigo-soja, sobre el rendimiento productivo y desarrollo de la molleja.



MATERIAL Y METODOS

Para cumplir los objetivos del ensayo, se formularon 8 piensos experimentales con la misma composición en ingredientes, exceptuando la inclusión de un 3% de distintas materias primas fibrosas, sustituyendo a un 3% de trigo del pienso control.

Las fuentes de estructura fibrosa se introdujeron en la mezcla sin proceso previo, manteniendo sus propiedades físicas. Se estableció un programa de alimentación a tres fases, por periodos de vida, (0 a 14d, 14 a 28d y 28 a 36d), y se utilizaron un total de 4160 pollitos broilers Ross 308 macho, que se distribuyeron uniformemente, en grupos de 52 animales, en 80 boxes, dando un total de 10 réplicas por cada tratamiento, y estos tratamientos, se distribuyeron aleatoriamente en cada uno de los boxes, con unas dimensiones de 2,5 x 1,6m, obteniendo un resultante de 4m² por box.

Para la determinación del tamaño de partícula de las materias primas fibrosas se tomaron unos 50g aproximadamente de cada una, y se pasaron cada una por una columna de tamices y posteriormente se pesó la cantidad retenida en cada tamiz, expresándola en relación a la cantidad inicial de muestra.

Los animales y el pienso consumido se pesaron al principio y al final de cada periodo para calcular la ganancia media diaria (GMD), el consumo medio diario (CMD), y el índice de conversión (IC).

Los datos sobre el desarrollo de la molleja se tomaron, con el sacrificio de un animal por box, siguiendo el RD 53/13, al finalizar cada una de las 3 fases de alimentación, y tomando pesos de molleja llena y vacía para después analizarlos estadísticamente.

El efecto de los tratamientos sobre PV, GMD e IC fue evaluado estadísticamente utilizando el procedimiento GLM del SAS. La comparación de las diferentes medias, se realizó mediante un test Dunnett, comparando los tratamientos experimentales, con el tratamiento control. Para la evaluación del desarrollo de molleja se utilizó unas medidas repetidas, utilizando PROC MIXED en SAS, y cada uno de los tratamientos fue comparado con el control, mediante un Test Dunnett. La mortalidad se analizó utilizando un proc Genmod en SAS.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el cómputo global de todo el ciclo productivo (0 a 36 días), observamos (Tabla 1) que a excepción del tratamiento con Pulpa de Remolacha, que da un CMD, una GMD y PV menores ($P < 0,05$), sin variar su IC respecto del tratamiento Control, los demás tratamientos no tienen diferencias significativas en estos parámetros, respecto del control ($P > 0,05$). En IC sí que observamos 2 tratamientos que difieren: el tratamiento Cascarilla de Avena, que muestra mejores resultados en IC y la Algarroba que lo empeora ($P < 0,05$).

Tabla 1. Efecto de la fuente de fibra sobre los parámetros productivos de los pollos en el periodo total de la prueba 0-36 d

0-36d					
Tratamiento	PV, g	GMD, g	CMD, g	IC	Mortalidad, %
Control	2858	78.09	118.7	1.520	6.731
Cascarilla de avena	2898	79.20	119.3	<u>1.506</u>	7.308
Cascarilla de soja	2869	78.72	120.2	1.529	7.692
Algarroba	2827	77.24	119.2	<u>1.543</u>	6.346
Pulpa Remolacha	<u>2799</u>	<u>76.45</u>	<u>115.7</u>	1.513	5.384
Paja de trigo	2874	78.54	119.1	1.520	6.731
Cascarilla de arroz	2888	78.93	120.3	1.524	9.615
Salvado de trigo	2872	78.50	119.5	1.522	6.538
Probabilidad*	0.0004	0.0002	<.0001	<.0001	0.3448

*probabilidad respecto a las diferencias significativas de los tratamientos frente al tratamiento control. Valores significativos subrayados y en negrita



En cuanto a los datos del desarrollo de la molleja (Tabla 2), observamos que los tratamientos de Cascarilla de Avena y de Pulpa de Remolacha muestran de un 20 a un 30% mayor ($P < 0,001$) peso de la molleja en los 3 periodos y en los 2 parámetros valorados, sumándose además con valores más altos, a los 14 días, la Paja de Trigo, y en el segundo periodo, la Algarroba ($P < 0,05$).

Tabla 2. Efecto de la fuente de fibra sobre el desarrollo de la molleja expresado en valor absoluto (g) y relativo al peso vivo (%PV)

Tratamiento	Peso Molleja Vacía (g)			Peso Relativo de la Molleja (%PV)		
	14 d	28 d	36 d	14 d	28 d	36 d
Control	12.9	23.7	28.5	2.53	1.27	0.99
Cascarilla de avena	15.2	30.4	37.4	2.99	1.61	1.29
Cascarilla de soja	12.5	28.1	30.5	2.46	1.50	1.07
Algarroba	13.0	29.5	30.2	2.64	1.59	1.07
Pulpa Remolacha	15.2	31.0	37.1	3.16	1.73	1.30
Paja de trigo	14.7	26.6	32.5	2.91	1.45	1.12
Cascarilla de arroz	14.2	28.2	33.2	2.75	1.53	1.14
Salvado de trigo	13.0	27.4	31.2	2.59	1.48	1.09
Probabilidad*	<.0001	0.041	0.001	<.0001	0.014	0.002

*probabilidad respecto a las diferencias significativas de los tratamientos frente al tratamiento control. Valores significativos subrayados y en negrita

Estos resultados son debidos principalmente a las características fisicoquímicas de las materias primas introducidas en las dietas, ya que, la cascarrilla de avena, aunque no es la materia prima con mayor tamaño de partícula, sí que es la que más resiste a esa transformación física de molienda, con lo que origina un aumento en el tamaño de la molleja, mejorando así la conversión del alimento, (Hetland and Svihus 2001). Del mismo modo pero de manera inversa ocurre con la algarroba, que después de una reducción del tamaño de partícula como la que sucede en la molleja, esta materia prima es poco resistente y no produce un desarrollo significativo en el órgano, además, empeorando la conversión del alimento.

Caso diferente, es la pulpa de remolacha donde sus características físico químicas hacen que se incremente la cantidad de agua en el interior de la molleja, creando un desarrollo de esta por volumen. De este modo, a pesar de arrojar valores mayores en desarrollo de la molleja, ésta retención de agua, da lugar a una mayor saciedad del animal, por lo que el valor de consumo diario es menor, provocando una menor ganancia media diaria, alcanzando el animal un peso vivo menor al finalizar el ensayo.

CONCLUSIONES

En definitiva podemos concluir que la inclusión de la Cascarilla de Avena como fuente de estructura fibrosa, sería beneficiosa a todos los niveles en el proceso productivo de un pollo de carne, pero que la Pulpa de Remolacha y la Algarroba, serían materias primas descartables para este proceso, ya que al final, obtenemos un valor del producto menor, con lo que no compensaría económicamente.

BIBLIOGRAFIA

- Abdollahi M.R., Ravindran V. y Svihus B. 2013. Anim. Feed. Sci. Technol. Vol 179: 1-23.
 Amerah A. M., Ravindran V. y Lentle R.G. 2009. Br. Poult. Sci. Vol. 50: 366-375.
 González Alvarado J. M., Jiménez-Moreno E., Valencia D.G., Lázaro R. y Mateos G.G. 2008. Poul. Sci. Vol 87: 1779-1795.
 Hetland H. y Svihus B. 2001. Br. Poult. Sci. Vol 42: 354-361.
 Hetland H., Svihus B. y Krogdahl A. 2003. Br. Poult. Sci. 44: 275-282.



Jiménez-Moreno E., González-Alvarado J. M., Lázaro R. y Mateos G. G. 2009. Poult. Sci. Vol. 86: 1705-1715.
Jiménez-Moreno E., Frikha M., de Coca-Sinova A., García J. y Mateos G.G. 2013. Anim. Feed. Sci.Technol. Vol. 182: 33-43.
Mateos G.G., Jiménez-Moreno E., Serrano M.P. y Lázaro R. 2012. J. Appl. Poul. Res. Vol. 21: 156-174.
Sacranie A., Svihus B., Denstadli V., Moen B., Iji P. A. y Choct M. 2012. Poult. Sci. Vol 91: 693-700.



¿QUÉ PODEMOS HACER PARA MEJORAR EL INTERVALO DESTETE-CUBRICIÓN FÉRTIL?

Juárez Arnedo, Miguel Ángel; Morientes Lavín, Marta; Prades Prades, Beatriz Elena
Tutor: Alvir Morencos, María Remedios

Departamento de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid
ma.juarez@alumnos.upm.es; marta.morientes.lavin@alumnos.upm.es; elena.pprades@alumnos.upm.es

RESUMEN

El objetivo más importante en una producción ganadera de cerdos es, sin duda alguna, reducir el intervalo destete-cubrición fértil (IDCF), de esta manera se aumenta el ritmo productivo de la explotación. Este trabajo consiste en investigar aquellos métodos que son capaces de cumplir el objetivo que se propone mejorar. Para ello se centra en las hormonas que pueden sustituir a las producidas de forma natural en el ciclo ovárico de la cerda. Se ha comprobado que estas hormonas sintéticas tienen un efecto positivo en la reducción del IDCF.

Palabras clave: *destete-celo, PMSG, hCG*

INTRODUCCIÓN

Por lo general, el ciclo ovárico o ciclo estral de las cerdas dura entre 18 y 24 días y la gestación, de 112 a 115 días. Suelen tener camadas con más de 10 lechones, de los cuales interesa que la mortalidad neo-natal sea lo más baja posible. Por ello, se estableció, según el BOE (2012), relativo a las normas mínimas para la protección de cerdos, que la lactación no puede ser menor a 21 días, así y para aumentar el ritmo reproductivo de la explotación, en este trabajo se revisa el uso de algunas hormonas sintéticas con el objetivo de intentar reducir el intervalo destete-cubrición.

FASE FOLICULAR VS LACTACIÓN

El ciclo hormonal de la cerda se puede dividir en dos fases: fase folicular y fase lútea. Nuestro objetivo principal es forzar a la fase folicular para que ocurra antes una vez que la cerda ha sido destetada. Estos ciclos están regulados por:

- Sistema nervioso central: Provoca la liberación de GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) en el hipotálamo.
- Adenohipófisis: Productora de FSH (hormona foliculoestimulante), encargada del crecimiento y maduración de los folículos, y LH (hormona luteinizante), cuya función es la ovulación de los folículos y formación de los cuerpos lúteos.
- Ovario: Productor de estrógenos, andrógenos y progesterona.
- Útero: Productor de prostaglandinas (PGF-2 α), reductoras del cuerpo lúteo.

Tras el celo y la ovulación, producida al final de la fase folicular, y posterior transformación del folículo en cuerpo lúteo, tiene lugar la fase lútea. Esta fase está caracterizada por la secreción de progesterona que impide el desarrollo de folículos bloqueando la producción de FSH y LH e impidiendo que haya un nuevo ciclo, siempre y cuando ocurra la fecundación del óvulo. Los cuerpos lúteos formados carecen en los primeros 12 días de receptores para la PGF-2 α y no empiezan a ser sensibles a estas hormonas hasta 12-14 días después. Es entonces cuando puede comenzar la regresión en los cuerpos lúteos de ciclo (la cerda no está gestante) y, en consecuencia, iniciar nuevamente las descargas de FSH y LH, que vuelven a estimular la formación de un nuevo grupo de folículos, la maduración y la posterior ovulación de éstos. Para que la ovulación se produzca tienen que coexistir unos niveles mínimos de

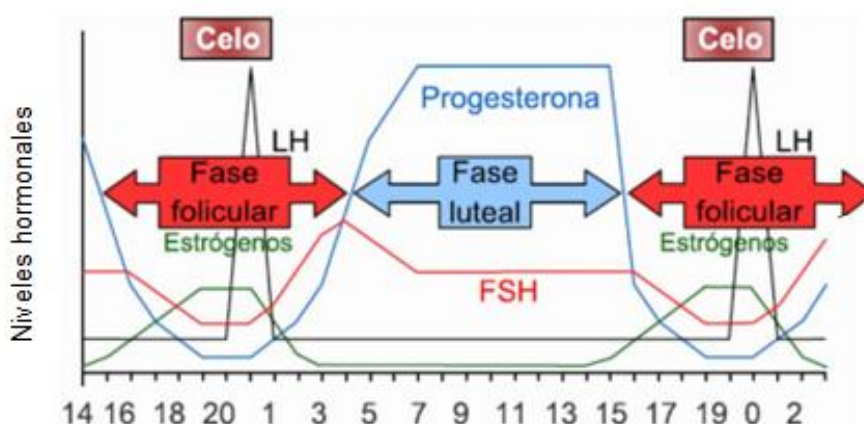


progesterona que permitan el pico de LH impulsor de este fenómeno. Todos estos procesos quedan recogidos en la Figura 1.

Las concentraciones de progesterona de los cuerpos lúteos de gestación aumentan conforme avanza la misma, produciendo un feedback negativo sobre la FSH y la LH. Este feedback también ocurre durante la lactación con la prolactina.

Por lo tanto, lo que más nos interesa estimular es la producción de la FSH lo antes posible inhibiendo a la progesterona y a la prolactina. Por ello, para reducir el intervalo destete-celo, y poder cubrir a las cerdas, es necesario ayudar a regular el nivel de dichas hormonas naturales con otras que sean sintéticas.

Figura 1. Ciclo hormonal entre ovulaciones (Jiménez, 2014)



HORMONAS SINTÉTICAS

Uno de los métodos que se pueden utilizar para reducir el intervalo destete-cubrición es el uso de hormonas sintéticas. Éstas son capaces de regular, activar y promover la síntesis y actividad de las hormonas necesarias para iniciar un nuevo ciclo estral, como las ya mencionadas en el apartado anterior.

- PMSG (Gonadotropina del suero de yegua gestante) o eCG (Gonadotropina coriónica equina): Esta glicoproteína tiene efectos análogos o parecidos a los de la FSH.
- hCG (Gonadotropina coriónica humana): Es la hormona con una acción similar a la LH.

Estas hormonas se administran mediante inyecciones subcutáneas o intramusculares aplicadas 24 horas tras el destete. Primero se aplica la PMSG y 96 horas más tarde la hCG, con la aparición del celo de 3-6 días después de su aplicación. No darán resultado en hembras desnutridas y pueden tener efectos secundarios en aquellas con ciclos sin celo detectado o con formación de quistes por mantener los folículos artificialmente estimulados sin ovular. Las dosis son generalmente 400 UI de PMSG y 200 UI de hCG, y existen diferentes productos que las combinan, como el caso del Duogestral (Imagen 2).



Imagen 2. Duogestal: asociación hormonal de



Rosner (2009), realizó un estudio con dos grupos de cerdas para conocer si el tratamiento con PMSG y hCG daba mejores resultados a la hora de adelantar el celo post-destete en cerdas con períodos de lactación de 28 días. Como se puede ver en la Tabla 1, no solamente es efectivo para dicho fin, ya que el 81,8% de las cerdas tratadas mostraron celo post-destete a los 5,1 días frente a los 10,4 del control, sino que, a su vez, también es útil para aumentar el porcentaje de cerdas cubiertas con éxito, ya que sólo el 6,1% de las cerdas retornaron en celo, frente al 44,4% de las no tratadas.

Tabla 1. Cerdas tratadas con PMSG + hCG frente a cerdas no tratadas. Porcentaje de cerdas en celo tras tratamiento e intervalo en días destete-celo.

Tratamiento	% de celo	Destete-celo (días)	% retorno de celo, 8 a 25 días
400 PMSG + 200 hCG	81,8	5,1	6,10
Control (no tratadas)	45,9	10,4	44,4

PMSG = Gonadotropina del suero de yegua gestante

hCG= Gonadotropina coriónica humana

En otro trabajo realizado por Kirkwood et al. (2013) se estudió el efecto del destete fraccionado durante el periodo de lactación para favorecer la temprana aparición de la ovulación. Lo que se hizo fue seleccionar, como se muestra en la tabla 2, a 42 cerdas que llevaban ya 18 días en lactación y se les aplicó una dosis de 400 UI de eCG más 200 UI de hCG. Por un lado, a un grupo de 21 cerdas (sometidas a destete fraccionado) se les destetaban los lechones de mayor tamaño, dejando 5 ó 6 lechones a mamar, mientras las 21 restantes (sometidas a destete directo) se quedaban con todos los lechones. Al cumplir el día 26 de lactación se les retiró a las 42 cerdas los lechones. A los 2 días post-destete se realizó un análisis sanguíneo a cada una de las cerdas en busca de los niveles de progesterona. Con este dato se podía saber si estaban en fase de ovulación debido a que se consideró que con cantidades de progesterona en sangre superiores a 5 µg/ml las cerdas se encontraban en fase ovulatoria. Los resultados mostraban un mayor número de cerdas en ovulación (47%), en el grupo de cerdas que habían sido sometidas a destete fraccionado, mientras que las cerdas sometidas a destete directo en ovulación (9,5%) fueron menores. Además, todo el grupo de cerdas sometidas a destete fraccionado que no presentaron ovulación entraron en celo a los 14 días del destete. Sin embargo, las cerdas del grupo destete directo permanecieron en anestro en el día 14 post-destete. Por tanto las cerdas sometidas a destete fraccionado y a la aplicación de la dosis de eCG y hCG presentaron respuesta ovulatoria y celo antes de las no tratadas, reduciendo así el intervalo destete-celo y, por consiguiente, una posible cubrición en mayor porcentaje



Tabla 2. Respuesta ovulatoria (%) de cerdas lactantes sometidas a destete fraccionado y directo tratadas con eCG y hCG (Kirkwood, 2013)

Tipo de destete	Nº cerdas	Tamaño camada 18 días \approx (rango)	Tamaño camada 26 días \approx (rango)	% Ovulación \neq
Destete fraccionado	21	9.3 \pm 0.2 (8-11)	5.2 \pm 0.4 ^a (5-6)	47.6 ^c
Destete directo	21	9.1 \pm 0.2 (7-10)	9.1 \pm 0.2 ^b (7-10)	9.5 ^d

eCG = Gonadotropina coriónica equina

hCG = Gonadotropina coriónica humana

\approx media \pm error estándar

\neq cerdas con un nivel de progesterona en sangre $>5\text{ng/ml}$ a los 2 días postdestete

a b los valores de las columnas con distinto superíndice difieren a ($p < 0,001$)

c d los valores de las columnas con distinto superíndice difieren a ($p < 0,05$)

CONCLUSIÓN

Uno de los aspectos más importantes de la producción porcina es conseguir la mayor cantidad de lechones sanos y fuertes destetados, cumpliendo el mínimo de 21 días. Para ello se necesita que la cerda entre lo antes posible en celo fértil para acelerar la producción. El método más eficaz es la utilización de hormonas sintéticas, como las gonadotropinas (hCG y eCG) en las dosis indicadas en los estudios presentados, que suplan o estimulen la actividad de las hormonas implicadas en la formación de folículos y en la ovulación durante el ciclo ovárico natural de la cerda para disminuir el intervalo destete-cubrición fértil.

AGRADECIMIENTOS

A nuestra compañera Casilda Hernández-Gil que también participó en la versión del trabajo que presentamos en la asignatura de Fisiología animal.

BIBLIOGRAFÍA

- BOE. 2012. Modificación del Real Decreto 1135/2002, de 31 de octubre, relativo a las normas mínimas para la protección de cerdos. Núm. 278, de 20 de noviembre de 2002. CAPÍTULO II. Disposiciones específicas para las distintas categorías de cerdo. Apartado C, pp.8.
- Jiménez, M. 2014. COLVET Lleida, Servicio técnico porcino MSD Animal Health. [En línea] https://www.ruralcat.net/c/document_library/get_file?uuid=4ea08bdd-12d5-4418-8f92-1f0a98ca46d8&groupId=10136. Consulta 28-3-2016.
- Kirkwood, R.N.; Turner, K.C.; Rutley, D.L. 2013. J. Swine Health Prod., 21 (1), pp 42-44. [En línea] <https://www.aasv.org/shap/issues/v21n1/v21n1p42.html>. Consulta 17-2-2015.
- Rosner, A. 2009. ANAPORC, núm. 100, pp. 22-26, Abril, 2013. [En línea] https://issuu.com/instituto_leblu/docs/seprata_virtual_msd_ruth_m_mayo13.
- Syntex. [En línea] http://www.syntexar.com/es/productos_veterinarios/duogestal. Consulta 28-3-2016.



IMPACTO DE LOS GRADOS DÍA DE AYUNO SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL Y LA CALIDAD DE LA CARNE EN TRUCHA ARCOÍRIS

Bermejo-Poza, Rubén¹; Fernández-Muela, Montserrat¹

Tutores: Villarroel, Morris²; De la Fuente, Jesús¹

¹ Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid

² Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I.A. Universidad Politécnica de Madrid.

rbermejop89@gmail.com

RESUMEN

El manejo pre-sacrificio de los animales en acuicultura incluye la práctica del ayuno, que asegura un vaciado del aparato digestivo pero puede incrementar la respuesta al estrés, afectando al bienestar animal y a la calidad de la carne, por lo que es necesario determinar un periodo óptimo de ayuno. Para analizar el efecto de este factor potencialmente estresante, se contó con 480 truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) que se separaron en 4 tratamientos: alimentadas hasta el día antes de su sacrificio, sometidas a un ayuno de 5 días (55 grados día, °C d), 10 días (107 °C d) o 20 días (200 °C d). El peso al sacrificio, coeficiente de condición corporal, pH gástrico, índice hepatosomático, glucógeno y pH muscular fue similar en las truchas no ayunadas que en las sometidas a 55 °C d de ayuno. Por otro lado, el índice digestivo-somático, contenido estomacal y glucógeno hepático fueron mayores en las truchas no ayunadas que en el resto de los grupos. En conclusión, un ayuno de 55 °C d no afecta negativamente ni a su bienestar ni a la calidad de su carne, sin embargo en ayunos más prolongados de 107 °C d o superiores empezamos a encontrar que hay una alteración de los parámetros estudiados en relación con aquellas truchas no sometidas a ayuno.

Palabras clave: *grados día, respuesta de estrés, trucha arcoíris*

INTRODUCCIÓN

En acuicultura, el ayuno es una práctica necesaria y habitual durante el manejo de los peces en momentos como el pre-sacrificio, ya que permite un vaciado del contenido digestivo previniendo la contaminación de la canal y del agua (Robb, 2008). Además se ha demostrado que el ayuno puede tener efectos beneficiosos en la calidad de la carne eliminando sabores indeseables (Palmeri et al., 2009), incrementando la firmeza (Sáez et al., 2013) y la frescura (Ginés et al., 2002). Sin embargo, la falta de alimento tiene el riesgo de provocar una caída de peso y puede también incrementar los niveles de respuesta de estrés de los peces y si estos son lo suficientemente altos, pueden afectar a las características de la carne (Poli et al., 2005). Recientemente, algunos autores han analizado el efecto de un ayuno de corta duración (hasta 9 días) en trucha arcoíris, incluyendo el efecto de la temperatura del agua mediante los grados día (López-Luna et al., 2013) y su efecto sobre la calidad de la canal (Bermejo-Poza et al., 2015; López-Luna et al., 2014), encontrando todos que la trucha es capaz de adaptarse a un ayuno de corta duración sin modificar su calidad. Por todo esto, es importante determinar el tiempo necesario de ayuno pre-sacrificio para asegurar un vaciado del aparato digestivo y una optimización de los costes de alimentación sin afectar al bienestar animal. En este trabajo se ha tratado de valorar el impacto que distintos tiempos de ayuno pre-sacrificio tienen sobre el bienestar y la calidad de la carne en la trucha arcoíris.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la Piscifactoría de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes (UPM, Madrid). Se dispuso de 4 tanques paralelos de 5,16 m³ de capacidad que disponían de agua proveniente de pozo, proporcionando un flujo de agua constante. Cada tanque fue a su vez dividido en seis jaulas mediante unos separadores



de acero inoxidable que permitían el paso del agua y cada jaula contaba con un sistema de oxigenación del agua para asegurar unas condiciones favorables para los peces. Se usaron 480 truchas arcoíris procedentes de la granja Cien Fuentes (Cifuentes, Guadalajara). Los peces se distribuyeron de forma aleatoria entre las 24 jaulas ($n=20$). Previamente al periodo experimental, los animales se alimentaron dos veces al día con un pienso comercial (42% proteína bruta, 23% grasa, 4,1% cenizas y 2% fibra bruta, 30 ppm astaxantina; 1% tasa de alimentación). Para calcular los grados día ($^{\circ}\text{C d}$), se midió la temperatura del agua cada 5 minutos utilizando sensores de temperatura sumergibles en agua (Hobo®-U11). Tras el pesaje inicial, los peces se sometieron a distintos tiempos de ayuno pre-sacrificio (0 días: 0D; 5 días: 5D, 55 $^{\circ}\text{C d}$; 10 días: 10D, 107 $^{\circ}\text{C d}$; 20 días: 20D, 200 $^{\circ}\text{C d}$) con un total de 6 jaulas por tratamiento ($n=120$). Tras el periodo de ayuno se sacrificaron todos los peces, previo aturdimiento eléctrico, mediante decapitación y se midieron, pesaron y evisceraron. Se calculó el coeficiente de condición corporal o CC ($\text{CC} = \text{Peso sacrificio (g)} / \text{Longitud corporal}^3 \text{ (cm)}$). Se pesó el contenido estomacal para calcular el peso vivo vacío ($\text{Peso sacrificio} - \text{contenido digestivo}$). El contenido estomacal se expresó como % relativo al peso del estómago y se determinó el pH gástrico utilizando un ph-metro con sonda ajustable por temperatura (HANNA HI9125). Se pesó también aparato digestivo (de estómago a ano, incluyendo la grasa visceral) e hígado, expresándose como % relativo al peso vivo vacío (DSI: índice digestivo-somático y HSI: índice hepatosomático). El rendimiento canal se calculó como el cociente entre el peso al sacrificio y el peso canal, expresándose como porcentaje también. Se tomaron muestras de hígado y músculo, congeladas en nitrógeno líquido para la determinación de la concentración de glucógeno mediante la técnica de Dreiling et al. (1987). Por último, se determinó el pH muscular a nivel de la musculatura dorsal a las 0, 24, 48 y 72 horas *post-mortem*. Los datos fueron analizados estadísticamente usando el procedimiento GLM del programa SAS 9.1. con los días de ayuno como único factor fijo, excepto el pH muscular, donde se incluyeron las horas *post-mortem* como factor y se analizaron mediante el procedimiento MIXED. Para la comparación de medias se utilizó el test de Bonferroni con un nivel de significación $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los parámetros biométricos y el pH gástrico presentaron diferencias significativas según los días de ayuno, excepto el rendimiento canal (Tabla 1). El peso al sacrificio y el coeficiente de condición corporal descendieron con los días de ayuno sin diferencias entre el grupo 0D y 5D, lo que concuerda con lo descrito en otros estudios que observaron que un ayuno de más de 70 $^{\circ}\text{C d}$ es suficiente como para producir una disminución del peso al sacrificio y del coeficiente de condición corporal (Pottinger et al., 2003). El contenido estomacal y el DSI fueron menores en los peces de los grupos 5D, 10D y 20D respecto a los del 0D. Estos resultados coinciden con Lines y Spence (2012), quienes observaron que la duración del ayuno necesaria para vaciar el estómago varía de 1 a 5 días, dependiendo de la temperatura del agua. El pH gástrico evolucionó de forma contraria aumentando con los días de ayuno debido a la no presencia de alimento, pero manteniéndose en valores ácidos (2-4). En la trucha arcoíris se ha descrito anteriormente una continua secreción ácida en el estómago que permite mantener los niveles de pH gástrico bajos durante el ayuno (Yúfera et al., 2012). En el grupo 0D, el HSI y el glucógeno hepático fueron mayores que en los grupos 10D y 20D, por lo que esta reducción en el peso del hígado fue debida a una movilización de las reservas de glucógeno en el mismo para suplir las necesidades provocadas por el ayuno (Davis y Gaylord, 2011). Hasta los 200 $^{\circ}\text{C d}$ (20D) el ayuno no tuvo efecto sobre las reservas de glucógeno muscular, ya que se ha descrito que sólo es una pequeña parte de la contribución al gasto de energía total y en peces, su disminución está más relacionada con la actividad muscular y con un bajo efecto del ayuno (Harmon et al., 2011). El pH muscular fue mayor en el grupo 20D que en el 5D a todas las horas *post-mortem* (Figura



1), lo que pudo ser debido a los valores más bajos de glucógeno muscular en ese grupo y como consecuencia a una menor producción de ácido láctico (Grigorakis et al., 2003).

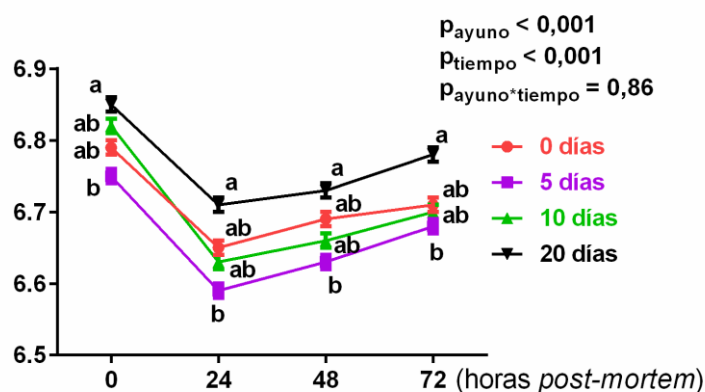
Tabla 1. Medias de peso sacrífico (PS), coeficiente de condición (CC), contenido estomacal (CE), pH gástrico (pHG), índices somáticos del digestivo (DSI), hígado (HSI), glucógeno hepático (GH), glucógeno muscular (GM) y rendimiento canal (RC) según días de ayuno (0D, 5D, 10D y 20D: 0, 5, 10 y 20 días, respectivamente) en truchas arcoíris.

	0D	5D	10D	20D	EEM ¹	Significación (p)
n	120	120	120	120		
PS (g)	270 ^a	260 ^{ab}	250 ^b	229 ^c	3,98	<0,001
CC	1,68 ^a	1,58 ^{ab}	1,53 ^b	1,49 ^b	0,04	0,002
CE (%)	12,4 ^a	3,53 ^b	3,84 ^b	2,89 ^b	1,27	<0,001
pHG	2,68 ^c	2,21 ^c	3,52 ^b	4,44 ^a	0,16	<0,001
DSI (%)	7,49 ^a	6,26 ^b	6,30 ^b	6,07 ^b	0,16	<0,001
HSI (%)	1,33 ^a	1,14 ^{ab}	1,05 ^b	1,02 ^b	0,06	<0,001
GH (mg/g)	172 ^a	111 ^b	64,7 ^c	43,0 ^c	8,15	<0,001
GM (mg/g)	6,80 ^a	8,07 ^a	6,85 ^a	4,92 ^b	0,46	<0,001
RC (%)	90,7	91,8	91,4	91,0	0,36	0,17

¹ Error estándar de la media

a, b, c Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 1. Medias de pH muscular (n=20) según los días de ayuno y las horas post-mortem en truchas arcoíris.



a, b Letras diferentes indican diferencias significativas en esas horas post-mortem ($p < 0,05$)

CONCLUSIONES

Según los resultados del presente trabajo, someter a la trucha arcoíris a un ayuno de 5 días (55 °C d) no repercute negativamente ni a su bienestar ni a la calidad de su carne. Sin embargo, a partir de 10 días de ayuno (107 °C d) pre-sacrificio, la privación de alimento empieza a afectar a estos parámetros. Por tanto, se recomienda un ayuno pre-sacrificio de 55 °C d de duración para optimizar los costes de alimentación sin afectar a la calidad de la carne.

**AGRADECIMIENTOS**

Esta prueba ha sido financiada por el proyecto AGL2013- 45557-P.

BIBLIOGRAFÍA

- Bermejo-Poza R., De la Fuente J., Pérez C., Lauzurica S., González E., Diaz M.T., Villarroel M. 2015. *Aquaculture*, 443: 24-30.
- Davis K.B., Gaylord T.G. 2011. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 158: 30-36.
- Dreiling C.E., Brown D.E., Casale L., Kelly L. 1987. *Meat Sci.*, 20: 167-177.
- Ginés R., Palicio M., Zamorano M.J., Argüello A., López J.L., Afonso J.M. 2002. *Aquaculture Int.*, 10: 379-389.
- Grigorakis K., Taylor K.D.A., Alexis M.N. 2003. *Food Chem.*, 81: 263-268.
- Harmon K.J., Bolinger M.T., Rodnick K.J. 2011. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 158: 423-431.
- Lines J.A., Spence J. 2012. *Fish Physiol. Biochem.*, 38: 153-162.
- López-Luna J., Vásquez L., Torrent F., Villarroel M. 2013. *Aquaculture*, 400: 142-147.
- López-Luna J., Torrent F., Villarroel M. 2014. *Aquaculture*, 420-421: 63-70.
- Palmeri G., Turchini G.M., Marriott P.J., Morrison P., De Silva S.S. 2009. *Aquaculture*, 287: 354-360.
- Poli B.M., Parisi G., Scappini F., Zampacavallo G. 2005. *Aquacult. Int.*, 13: 29-49.
- Pottinger T.G., Rand-Weaver M., Sumpter J.P. 2003. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 136: 403-417.
- Robb D.H.F. 2008. *Fish Welfare*: pp. 217-242.
- Sáez M.I., Navarro G., García-Mesa S., Martínez T.F., García-Gallego M., Suárez M.D. 2013. *J. Sci. Food Agric.*, 93: 2323-2330.
- Yúfera M., Moyano F.J., Astola A., Pousão-Ferreira P., Martínez-Rodríguez G. 2012. *PLoS One*, 7: e33687.



DROP-IN BIOFUELS TECHNOLOGIES: *Jatropha curcas* L., AN ALTERNATIVE CROP FOR BIODIESEL TO ENERGETICALLY ISOLATED FARMS IN ANGOLA

Rosenberg, Klaus Philip

Tutores: Curt, María Dolores ¹; Arce, Augusto ²

¹Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

²Departamento de Química. E.T.S.I Agrónomos Universidad Politécnica de Madrid.

kp.rosenberg@alumnos.upm.es

ABSTRACT

The new drop-in fuels technologies stream deals with renewable fuels that can be blended with diesel or gasoline meeting current standards and being used in engines without major design modifications. In the last years, the crop of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) has been introduced in the African countries like Tanzania, Zambia and South Africa, among others. The aim of this research is to determine the energy potential of *Jatropha* for biodiesel production in Angola, with a special focus on the reduction of current consumption of fossil fuels in energetically isolated farms. According to recent research *Jatropha* oil yield can achieve 2,625 L.ha⁻¹ in optimal crop conditions, which represents 75.6 GJ.ha⁻¹ in terms of primary energy and could supply about 7.7 MWh ha⁻¹ electric power. The electric power consumption in Angola reached 5.32 TWh (5,320,000 MWh) in 2013. Therefore, the land area required to generate 10% electric power consumption from *Jatropha* biodiesel was estimated at 69,091 ha, which represented only 0.12% agricultural land area in Angola.

Key words: *energy, liquid fuel, engines*

INTRODUCTION

Jatropha (*Jatropha curcas*) can be described as a perennial shrub or small tree that reaches no more than 5 to 6 meters high. It is native to Central America and Mexico, with a distribution between 30° N and 35° S. It is well adapted to arid and semi-arid conditions, being used to improve degraded soils, to support crop of vanilla, and also to be used as living fence and for its medicinal properties. This crop has been significantly introduced, in terms of cultivated area, in countries like India and Tanzania due to its potential for biodiesel production from its seed oil. Seed oil is turned into biodiesel through a process of transesterification. According with existing literature, the life span of this shrub is approximately 30 to 50 years and its seeds contain 30 to 35% oil. The actual productive potential of *Jatropha* is not well known; it has been discussed in the scientific literature showing yields from 0.5 to 12 t.ha⁻¹ (Pandey et al., 2012). As a perennial crop, yields are lower in the first years of the *Jatropha* crop. The biodiesel obtained from *Jatropha* crops belong to first generation biofuel category, which involves a cheaper and simple conversion process. It has been reported as a successful alternative for small scale farms in Tanzania, as long as a good management program is implemented (Brittaine and Litaladio, 2010). The goal of this project is to determine the energy potential of *Jatropha* for the replacement of fossil fuels consumption used to generate electric power in an isolated farm in Angola, as a case study representative of what could be implemented in this African country. The field work aimed at the analysis of the electric power consumption is the farm named 'Aurora', a stage needed for the cabinet work, which objective was to assess the land requirements for the replacement of fossil fuels with biofuels.

In this work the introduction of an energy crop as *Jatropha* (*Jatropha curcas*) is proposed to obtain oil and subsequently, produce biodiesel with a view to the replacement of fossil fuels in energetically isolated farms. In a further research it will be undertaken the study of the blend options available for current electric power generators or their replacement by other engines running exclusively on pure vegetable oils (PVO). Whatever the biofuel is, it



is important to know that the maximum admissible proportion of biofuel set in technical specifications of engines. It is possible to find in the market blends with increasing biodiesel proportion, like B2 (2% biodiesel blend), B4, B5, B7, B10, B20 and B100 (100% biodiesel).

MATERIALS AND METHODS

Case Study

Aurora farm is located in the province of Catete 71 km East Luanda which is the current capital of Angola. Their main activity is the yoghurt production, which involves a number of farming activities like land preparation, planting, irrigation, harvesting, machinery maintenance, industrial operations and others. The Farm runs 4 diesel generators; two of 400 KVA, one of 700 KVA and a little one of 150 KVA.

Land requirements for growing *Jatropha*

The project aims to the assessment of the *Jatropha* crop land needed for the replacement of diesel consumption in electric power generation in Aurora farm, as a case study; additionally, it was also estimated for the whole country, at a rough scale. In the case study, the basic formula for the calculation of land requirements (LR) was the following:

$$LR = (\sum \text{Fuel for electric power consumption}) / (\text{oil crop yield} \times \text{Biodiesel production efficiency} \times \text{Biodiesel energy value} \times \text{Generation efficiency})$$

Where:

(i) Fuel for electric power consumption: Data and information on fuel and electric power consumption comes from the author's own measurements, by taking daily readings of working hours of generators in electrical displays and daily fuel consumption; (ii) Oil crop yield (L oil.ha^{-1}): Annual yields of *Jatropha* range from 0.2 to 2.0 kg seeds per tree (Francis et al., 2005); it has been estimated a production of 2.0-3.0 t.ha^{-1} in semi-arid areas (Heller, 1996; Tewari, 2007). In our work, a hypothetical scenario was conducted, assuming 3 t.ha^{-1} and 35% seed oil content; (iii) Biodiesel production efficiency: It was assumed a simplified factor: 0.8 l biodiesel produced from 1 l seed oil; (iv) Biodiesel energy value: It was taken from the Directive 2009/28/EC of the European Parliament and Council related to the promotion of the use of energy from renewable sources (EU, 2009); (v) Generation efficiency: It was assumed 40%, a common value for electric power generators; (vi) Measurements of fuel consumption and information on the energy consumption in Aurora Farm were made over a year, period of time in which the author of this study was working in Aurora farm. All data were taken in situ by the author.

RESULTS AND DISCUSSION

This energy crop has become a new true alternative of fossil fuel replacement, not only for its adaptation to poor soils subjected to significant levels of erosion, but also for the *Jatropha* biodiesel properties, which meet American (Fig.1) and European standards (Fig.2). The calorific power performance (Fig.3) and their contribution to reduce CO_2 emissions (Fig.4) in contrast to other energy crops grown for biodiesel production that have been published in recent years.

Figure 1 (above, left): *Jatropha* biodiesel (JB) vs American standard (AS). Source: Dominguez, 2012. Figure 2 (above, right): *Jatropha* biodiesel (JB) vs European standard, (ES). Source: Francis et al., 2005. Figure 3 (bellow, left): Calorific power of different energy sources (*Jatropha* oil column added). Source: Dominguez, 2012. Figure 4 (bellow, right): Emissions of CO_2 from land conversion for different types of biodiesel. Source: Ravindranath et al., 2009.



Fuel and electrical consumption

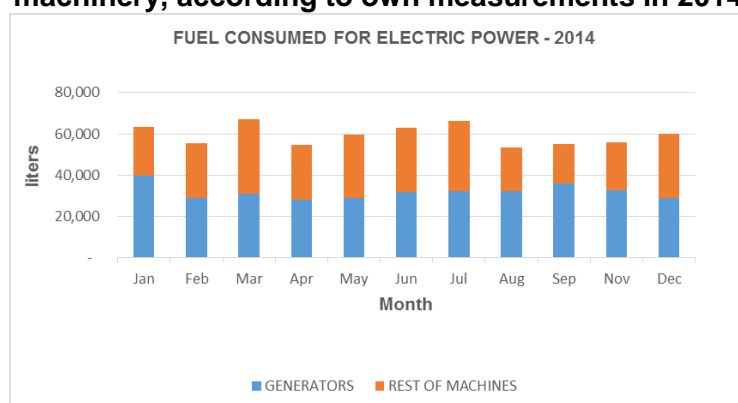
Aurora farm consumed a total of 607,834 L fuel in 2014 (Fig.5), from which 305,031 L were used exclusively for electric power generation, with an equivalent production of 5,550.4 MWh electric power in 2014. So, the four diesel power generators used for farm operations, consumed 55% of the total fuel demanded in one year. This item represented 7% of the total annual cost of the farm.

Assuming a plant density of 2.0×2.0 m and a yield of 3 kg of seeds per tree and year in optimal crop conditions, a Jatropha plantation might yield up to 7.5 t oil seeds.ha⁻¹.year⁻¹. If the seed oil content were 35% (v/w) the oil crop yield in optimal crop conditions would be 2,625 L Jatropha oil per ha and year. Moreover it is important to take into account that the conversion factor of 1 L oil is approximately 0.8 L biodiesel and that the electric generation efficiency of a diesel engine is about 40% in energy terms. According to Directive 2009/28 EC the energy content of the biodiesel produced from vegetal oil is 33 MJ.L⁻¹; therefore the energy yield of Jatropha biodiesel may amount up to 69,300 MJ.ha⁻¹



($=2,625 \text{ L seed oil.ha}^{-1} \times 0.8 \text{ L biodiesel. L}^{-1} \text{ seed oil} \times 33 \text{ MJ.L}^{-1} \text{ biodiesel}$), in our scenario. Assuming 40% efficiency for electric power generation, the *Jatropha* crop could supply about 7.7 MWh.ha^{-1} electricity ($1 \text{ MJ} \leftrightarrow 0.277 \text{ kWh}$). As a result, the total land area to supply the annual electric consumption of Aurora farm ($5,550.4 \text{ MWh}$ in 2014) would be 721 ha if 100% fossil diesel were replaced with *Jatropha* biodiesel. At a rough scale, the total land area needed to replace 10% electric consumption of the country -5.32 TWh in 2013 (IEA, 2013), would be $69,091 \text{ ha}$, which would mean 0.12% Angola agricultural land ($573,000 \text{ km}^2$ in all).

Figure 5: Fuel consumption of electric power generation and agricultural machinery, according to own measurements in 2014.



CONCLUSIONS

The drop-in technologies is making great strides bringing to our life new energy alternatives that are more environmentally friendly than the current fossil fuels under use. Dedicated energy crops like *Jatropha* (*Jatropha curcas*) are currently under research in order to improve yields, together with lower costs per hectare. *Jatropha* is suitable to small scale farms having been successfully implemented in countries like Tanzania and India. Angola has a high potential as a biofuel producer due the extensive area available for agriculture, as well as for its natural resources and their economic potential. It would be possible to implement a B10 diesel blend to reduce CO_2 in the country. The scenario proposed in this project could be applied to small scale farms in Angola, with a B100 biofuel.

BIBLIOGRAPHY

- Brittaine R. and Litaladio N. 2010. *Jatropha*: A smallholder Bioenergy Crop. Integrated Crop Management. FAO, 2010. Vol 8, chapter 4, page. 43-44.
- Domínguez, J.M. 2012. Combustibles. En: Guía básica de Calderas Industriales eficientes, Cap. 2. Consejería de Economía y Hacienda. Comunidad de Madrid.
- EU (European Union). 2009. Directive 2009/28 / EC. 2009. European Parliament and Council related to the promotion of the use of energy from renewable sources. p 49. Appendix III. <https://www.boe.es/boe/2009/140/L00016-00062.pdf>
- Francis, G., Edinger, R. & Becker, K. 2005. A concept for simultaneous wasteland reclamation, fuel production, and socio-economic development in degraded areas in India: need, potential and perspectives of *Jatropha* plantations. Natural Resources Forum. 29: 12–24.
- Heller, J. 1996. Physic Nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome. ISBN 92-9043-278-0.
- IEA (International Energy Agency). 2013. Electricity and heat for 2013. Statistics Search Report for Angola, accessed 25 march 2016. <http://www.iea.org/statistics/statisticssearch/report/?year=2013&country=Angola&product=Indicator>
- Pandey, V.C. 2012. *Jatropha curcas*: A potential biofuel plant for sustainable environmental development. Renewable and Sustainable Energy Reviews 16: 2870-2883.
- Ravindranath, N.H. 2009. Greenhouse gas implications of land use and land conversion to biofuels crops. Howard, R.W. and Bringezu, S. (eds.) Biofuels: Environmental Consequences and Interactions with changing Land Use. Cornell University, Ithaca.
- Tewari, D. N. 2007. *Jatropha* and biodiesel. 1st Ed. New Delhi: Ocean Books Ltd.



CÓMO OBTENER CARNE DE CONEJO ENRIQUECIDA CON OMEGA 3

Rodríguez, María; Meza Aydee; Bueno, Aurora

Tutora: Rebollar, Pilar G.

Departamento de Producción Agraria. E.T.S. I. Agronómica, Agroambiental y de Biosistemas. UPM
maria_rodriguez_francisco@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo ha sido determinar si la suplementación del alimento de los conejos en su fase de engorde (30-60 días de edad) con ácidos grasos poliinsaturados n-3 afecta a sus parámetros productivos y de rendimiento de la canal. Para ello se utilizaron 700 gazapos repartidos en 100 jaulas (7/jaula). Se distribuyeron al azar en dos grupos experimentales que se alimentaron *ad libitum* con piensos cuya composición únicamente difería en la fuente de grasa utilizada: grasa mezcla (grupo Control) o un producto comercial a base de aceite de salmón rico en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFA). No hubo diferencias en la mortalidad durante el cebo. El peso a 60 días, el consumo y la ganancia media diaria de los conejos PUFA fue menor pero el índice de conversión y la eficiencia alimentaria tendieron a ser mejores que en el grupo control. De una muestra de 30 animales de cada grupo que se sacrificaron a 60 días, el peso de la canal caliente fue menor en los animales suplementados, sin embargo no hubo diferencias en el rendimiento de la canal ni en el peso del hígado. A la vista de estos resultados se puede decir que además de los beneficios que puede aportar en cuanto al enriquecimiento de la carne, la suplementación de las dietas con omega-3 en gazapos no perjudica sus rendimientos productivos ni de su canal.

INTRODUCCION

Son muchos los trabajos que actualmente señalan la gran importancia de consumir en nuestra dieta una cantidad mínima de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFA) para evitar enfermedades de naturaleza coronaria y cáncer de distintos tipos, así como para ayudar al correcto funcionamiento del sistema inmune (Calder, 2006; Trebble et al., 2003). Sin embargo, no se han realizado suficientes estudios para determinar si la suplementación con PUFA de origen marino en especies animales de interés agroalimentario como el conejo, afectaría al rendimiento productivo durante la etapa de engorde. Valiente et al. (2014) ya utilizaron un suplemento comercial rico en omega-3 en gazapos con unos niveles de inclusión bajos (7,5g de suplemento por kg de pienso) y observaron que la grasa de la canal presentaba un perfil de ácidos grasos insaturados satisfactorio pero sin efecto sobre los parámetros productivos.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar si la suplementación de la dieta con este producto comercial basado en aceite de salmón (rico en PUFA omega-3), incrementando su nivel de inclusión, podría influir en los parámetros productivos y de rendimiento de la canal en conejos de engorde.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 700 gazapos destetados (30 días de edad) procedentes de conejas (*Oryctolagus cuniculus*) híbridas (Neozelandés blanco x Californiano) repartidos en 100 jaulas con 7 gazapos de diferente camada cada una (Figura 1). Durante 30 días se alimentaron *ad libitum* con dos piensos de igual composición en ingredientes y valor nutritivo (2400 kcal ED/kg, 36% FND y 16% PB), pero formulados con dos fuentes de grasa diferentes. El pienso PUFA incluía un 6% de un suplemento (50% de extracto etéreo) a base de aceite refinado de salmón (Optomega 50, Optivite, International Ltd., España). Este suplemento consistió en una premezcla concentrada de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y omega-6, protegida con antioxidantes naturales a base de

astaxantina, en un excipiente adecuado para la incorporación en piensos de conejos, que aporta 13% de ácido docosahexaenoico (DHA; C22:6 n-3), 3% de ácido docosapentaenoico (DAPA; C22:5 n-3), 7% de ácido eicosapentaenoico (EPA; C20:5 n-3), 7% de ácido octadecatetraenoico (C18:4 n-3) y 2% de ácido linolénico (C18:3 n-3). Este suplemento se obtiene a partir de aceites refinados de salmón atlántico (100%) y contiene 200 mg de vitamina E por kg. En el pienso control (Control) se utilizó un 3% de grasa mezcla. Los dos piensos se presentaron en forma granulada y se suministraron *ad libitum* a 350 gazapos, respectivamente. Durante el ensayo se controló automáticamente el fotoperiodo (16 h luz: 8 h oscuridad), la temperatura (19-22°C) y la humedad. Se controló el consumo medio diario (CMD) y peso de los animales para determinar la ganancia media diaria (GMD; g/día), el índice de conversión (IC: CMD/GMD) y la eficiencia alimentaria (EA: GMD/CMD).

Figura 1. Gazapos en jaulas de engorde de la granja experimental de la UPM.
Fuente: de Diego (UPM)



Al final del cebo, se utilizaron 30 conejos al azar de cada grupo para estudiar el rendimiento de la canal (Figura 2). Primeramente se aturdió a los animales con una descarga eléctrica de bajo voltaje (90v, 5 seg), se suspendieron de las patas traseras con unos ganchos a la altura de los corvejones y se procedió al desangrado seccionándoles la carótida. Tras el desollado y eviscerado del animal, se pesó la canal caliente (PCC), el hígado y la piel, siguiendo las recomendaciones de Blasco et al. (1993).

Figura 2. Canal de conejo desollada y eviscerada. Fuente: Valiente (UPM)





Los resultados se analizaron con el software SAS (SAS Institute, 2001). Los parámetros productivos y de rendimiento de la canal fueron analizados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) considerando la dieta como efecto principal. Para la mortalidad se utilizó una Chi-cuadrado. Las medias se compararon mediante un t-test y sus diferencias se consideraron significativas a $P < 0,05$ y tendencia cuando $P = 0,1$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados productivos del periodo de cebo. No hubo diferencias significativas en la mortalidad durante todo el periodo de cebo que fue además prácticamente nula ($P > 0,05$). Los gazapos de ambos grupos empezaron la prueba con el mismo peso ($P > 0,05$). Sin embargo, el CMD, la GMD y el peso al final del cebo fueron menores en los animales suplementados que en los controles ($P < 0,05$). No obstante, el IC y la EA de los gazapos PUFA tendieron a presentar mejores valores que en los controles ($P < 0,09$).

Tabla 1. Parámetros productivos de gazapos alimentados con un pienso comercial y un pienso enriquecido con ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFA) durante el periodo de cebo (30-60 días de edad).

	Control	PUFA	sd	P>f
Nº de animales	350	350		
Peso Inicio Cebo (g)	415	411	4,9	0,5390
Peso Final Cebo (g)	1996	1931	13,8	0,0013
CMD (g/día)	112	106	0,83	0,0001
GMD (g/día)	46,5	44,7	0,314	0,0001
IC	2,42	2,37	0,018	0,0917
EA	0,416	0,424	0,003	0,0994
Mortalidad (%)	0	0,5714	0,404	0,3198

CMD: Consumo medio diario. GMD: ganancia media diaria. IC: índice de conversión. EA: eficiencia alimentaria.

En la tabla 2 se muestran los resultados de rendimiento de la canal. Aunque hubo una diferencia a la baja de 100g en el peso a sacrificio y en el PCC en los gazapos PUFA ($P < 0,05$), no se encontraron diferencias significativas con respecto a los controles en el peso de la piel, ni en el rendimiento de la canal, ni en el peso del hígado ($P > 0,05$).

Tabla 2. Parámetros de rendimiento de la canal de gazapos (60 días de edad) alimentados con un pienso comercial y un pienso enriquecido con ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFA).

	Control	PUFA	sd	P>f
Nº de animales	30	30		
Peso sacrificio (g)	2150	2041	38,3	0,0484
Peso piel (g)	379,6	375,1	8,0	0,697
PCC (g)	1254	1153	35,0	0,0458
Rendimiento canal (%)	58,4	56,9	1,38	0,4464
Peso hígado (g)	95,5	91,6	2,62	0,3037

PCC: peso de la canal caliente



Estos resultados no se habían observado en estudios previos (Valiente et al., 2014) con niveles inferiores de inclusión del mismo suplemento. Sin embargo, en este estudio, el incremento de 7,5g/kg a 30g/kg ha determinado una eficiencia mejor del pienso ingerido por los gazapos ya que se ha gastado menos pienso sin afectar el rendimiento de sus canales. No obstante, habría que valorar a mayor escala si los 92 euros de más que cuesta cada tonelada de pienso suplementada compensaría la reducción del consumo y el menor peso vivo del animal al sacrificio.

CONCLUSIONES

En esta prueba las diferencias entre alimentar a los gazapos con un pienso enriquecido en omega 3 y uno estándar no son muy marcadas. En el grupo PUFA los gazapos comieron menos, por lo tanto, llegaron con menor peso al sacrificio. Sin embargo, el índice de conversión y la eficiencia alimentaria tendió a ser mejor tras la suplementación, de modo que los gazapos aprovecharon mejor el pienso. Además, esta carne se podría vender como un producto enriquecido con lo que tendría un valor añadido y podría compensar el mayor coste del pienso empleado.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822 y la Comunidad de Madrid (S2013/ABI-2913).

BIBLIOGRAFÍA

- Blasco A., Ouhayoun J., Masoero G. 1993. Harmonization of Criteria and Terminology in Rabbit Meat Research. *World Rabbit Science* 1:3-10.
- Calder P.C. 2006. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *American Journal of Clinical Nutrition* 83(suppl): 1505S–1519S.
- Trebbie T.M., Wootton S.A., Miles E.A., Mullee M., Arden N.K., Ballinger A.B., Stroud M.A., Burdge G.C., Calder P.C. 2003. Prostaglandin E2 production and T-cell function after fish-oil supplementation: response to antioxidant co-supplementation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 376–82.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.
- Valiente V., Carro M.D., Rodríguez M., Formoso-Rafferty N., Velasco B., Astillero J.R., Rebollar P.G. 2014. Parámetros productivos y digestivos de gazapos de engorde alimentados con dietas enriquecidas con aceite de salmón. En: XXXIX Symposium de cunicultura de ASESCU, Tudela, España, pp. 103-106.



DIFERENCIAS FENOTÍPICAS EN EL INTERVALO ENTRE PARTOS SEGÚN EL MES DE PARTO DE LA RAZA LIMUSINA PARA DISTINTAS ZONAS GEOGRÁFICAS EN ESPAÑA

Aliste, María.

Tutores: Alenda, Rafael; López-Paredes, Javier.

*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I.A.. Universidad Politécnica de Madrid
maria.aliste.rabano@alumnos.upm.es*

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es estimar las diferencias fenotípicas existentes entre el carácter fertilidad medido por el intervalo entre partos, en base a 167.968 partos de 26.875 vacas nodrizas de la raza Limusina. Se estudia el efecto mes de parto y región sobre la fertilidad. Ambos efectos resultaron ser significativos. La región con mayor intervalo entre partos fue la región Sur en todos los meses. Los menores intervalos entre partos se producen con partos en primavera en el norte y en otoño en el Sur. En la región norte fue el mes de marzo el de menor intervalo entre partos, 397 ± 5 días y enero el de mayor intervalo entre partos, con una media de $410 \pm 5,1$ días. En la región Sur fue octubre el mes con menor intervalo de partos, $407 \pm 4,9$ días y febrero el mes de mayor intervalo entre partos con 420 ± 5 días.

Palabras clave: *fertilidad, zona geográfica, limusina.*

INTRODUCCION

La raza Limusina presenta una expansión de su población (MAGRAMA, 2015). En el SITRAN (Sistemas de Trazabilidad Animal, Subdirección de Productos ganaderos 2014) se encuentran registradas 189.472 nodrizas de esta raza con partos en el 2014. La explotación de esta raza se caracteriza por seguir un régimen semi-extensivo, de amplios periodos de pastoreo, cuya alimentación depende de la zona geográfica donde se encuentre, variando entre herbazales naturales, rastrojos cerealistas, majadales de las dehesas y pastos de montaña. Su elevada adaptación al medio es la razón de su amplia distribución en España en zonas notablemente diferenciadas (MAGRAMA, 2010). La fertilidad suele ser medida en el ganado vacuno por el intervalo entre partos. El intervalo entre partos está influido por el mes del anterior parto, por las circunstancias ambientales (temperatura) y el manejo (disponibilidad de pasto). El objetivo del presente estudio es analizar el carácter intervalo entre partos de la raza Limusina, de acuerdo con la zona geográfica en la que habite en función del mes de anterior parto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el análisis del carácter fertilidad de la raza Limusina, se utilizaron los datos de 26.875 vacas nodrizas, procedentes de la Federación Española de Criadores de la raza Limusina, con partos entre 1992 y 2015. Se definieron dos zonas geográficas en España. La región norte, formada por las comunidades autónomas de Galicia, Asturias, Cantabria, País Vasco y Navarra y región Sur formada por el resto de comunidades autónomas de España. Se creó un archivo con aquellas nodrizas con un intervalo entre partos entre 300 y 730 días, el desglose del número total de intervalo entre partos correspondiente para cada mes aparece en la Tabla 1. En la Tabla 2 se muestra las distribuciones de las nodrizas, número de primeros partos y partos totales según región.

**Tabla 1. Número total de intervalos entre partos según el mes de parto anterior.**

Mes	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sept.	Oct.	Nov.	Dic.
Nº IPP	6322	6719	8991	8278	5923	3466	2637	3394	7097	8659	6763	6417

*Nº IPP= número de intervalos de partos.

Tabla 2. Número de vacas nodrizas, primeros partos y partos totales según región.

	Norte	Sur
Vacas nodrizas	10682	16193
Primeros Partos	9245	13798
Partos Totales	41038	66930

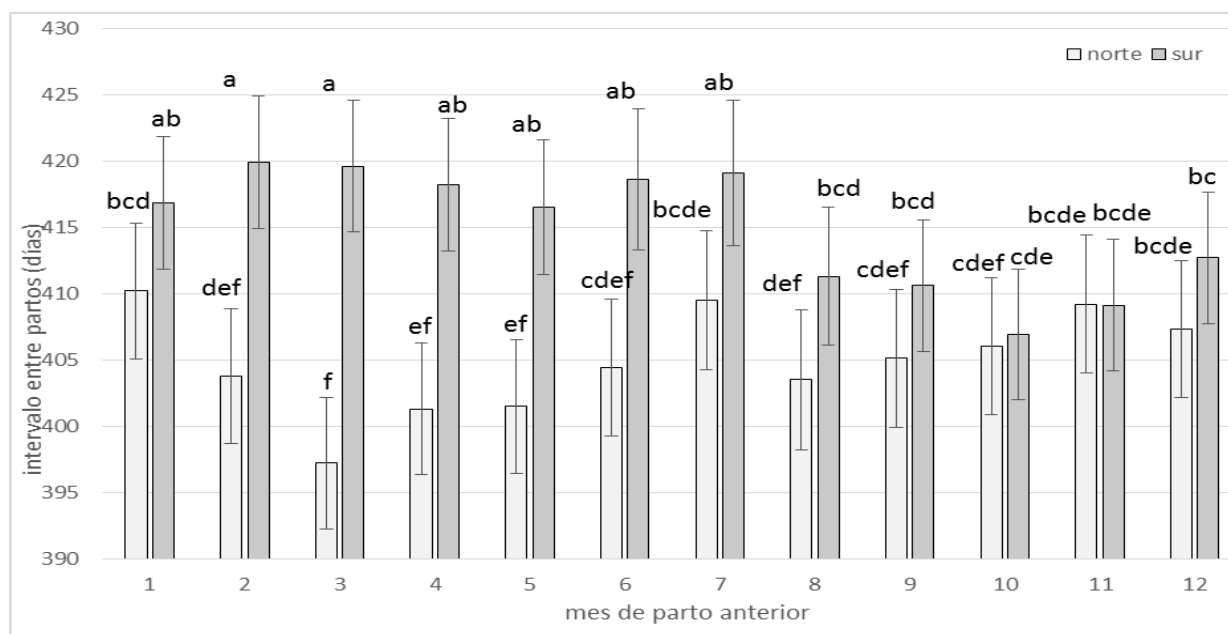
Se realizó un análisis de varianza para determinar la influencia en el intervalo entre partos (lpp) del mes de parto y región. Para ello se utilizó el siguiente modelo:

$$lpp = \mu + N^{\circ} \text{ parto} + \text{Año} + \text{Mes} + \text{Región} + \text{Mes} * \text{Región} + \text{Error}$$

Donde μ es la media de intervalo entre partos, N° parto es el número de parto, Año es el año del parto, Mes es el mes del parto y Mes*Región es la interacción mes y región.

Una vez determinados los efectos principales se realizó un test de comparación de medias (Tukey) para estimar las diferencias entre los grupos mes de parto – región. Se consideró nivel de significación $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

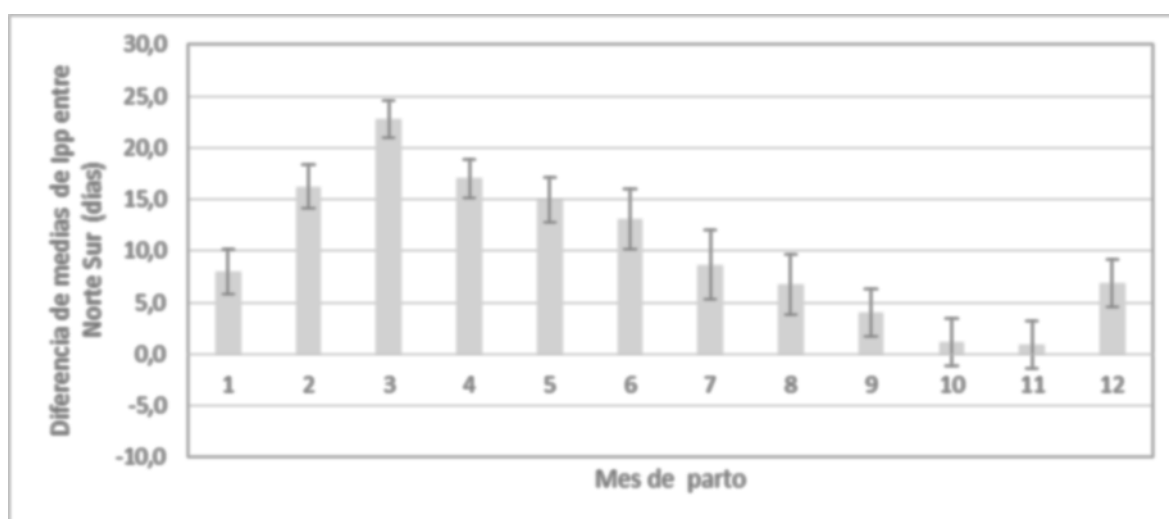
Figura 1. Intervalo entre partos según el mes de parto y las regiones estudiadas norte y sur*letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)



Los resultados sobre la influencia del mes de parto anterior y región norte o sur sobre el intervalo entre partos se muestran en la Figura 1. El mes de marzo es el que presenta una mayor diferencia, 23 días en el intervalo entre partos entre la región norte y la sur. Según López-Paredes y Alenda esta pérdida de fertilidad se traduce en una pérdida económica de -1.89 euros por cada ternero comercializado en las explotaciones del sur frente a las del norte.

La región norte posee menor intervalo entre partos según el mes del anterior parto en todos los meses excepto noviembre. En la región norte el mes con mayor intervalo entre partos es el mes de enero, 410 ± 5 días y el mes con menor intervalo entre partos es marzo con $397 \pm 5,1$ días. En la región sur el mes con mayor intervalo entre partos es febrero con 420 ± 5 días y el mes con menor intervalo entre partos es octubre con $407 \pm 4,9$ días. Los partos en otoño en el sur generan mayor fertilidad mientras que en el norte la fertilidad es mayor con partos en primavera.

Figura 2. Diferencias de medias de intervalos de parto entre las regiones norte y sur según mes de parto



La Figura 2 muestra la diferencia de medias, en días, que existe en el intervalo de partos entre las regiones norte y sur. Mostrando las mayores diferencias de fertilidad entre febrero, marzo y abril decreciendo estas diferencias en los meses de final de verano, otoño y principio de invierno. El intervalo entre partos es mayor en la región sur sobre todo en los meses con partos entre marzo y abril, posiblemente sea debido a que la época de cubrición coincide con los meses más calurosos de año. Las altas temperaturas durante este periodo afectan de manera negativa a la calidad del semen (Chemineau, P., 1993) y la escasez de alimentos al ciclo reproductivo de las hembras.

CONCLUSIONES

Se han encontrado diferencias significativas del mes de parto en la fertilidad tanto en la región norte como en la región sur. La fertilidad es mayor en la región norte de España prácticamente en cualquier mes. Las diferencias significativas en la fertilidad según el mes del parto deben ser consideradas en estudios que integren los costes de nutrición y valor del ternero comercializado para poder recomendar una concentración de los partos que incremente la rentabilidad.

AGRADECIMIENTOS

A la Federación Española de Criadores de raza Limusina por facilitar los datos utilizados para este trabajo.



Los datos fueron obtenidos de las ganaderías inscritas en el libro genealógico de la raza Limusina y proporcionados por la Federación Española de Criadores de raza Limusin.

BIBLIOGRAFÍA

- Chemineau, P., 1993. Medio ambiente y reproducción animal
www.fao.org/ag/Aga/AGAP/FRG/FEEDback/War/v1650b/v1650b04.htm fecha de consulta 14-abril-2016.
- López-Paredes, J., Alenda, R., 2015. Propuestas de mejora de la rentabilidad de las explotaciones de nodriza en España www.produccionanimal.com/propuestas-de-mejora-de-la-rentabilidad-de-las-explotaciones-de-nodriza-en-espana/ fecha de consulta 7-marzo-2016.
- Subdirección General de productos ganaderos. 2014. Estudio del sector español de vacas nodrizas. Datos: SITRAN. 27: 6.
- MAGRAMA.2010.Razas de ganado del catálogo oficial de España. 220: 186.
www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/publicaciones-interes/Razas_de_ganado_del_catologo_web_tcm7-306058.pdf fecha de consulta 11-marzo-2016.
- www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo/integrada-espana/bovino/limusina/default.aspx fecha de consulta 11-marzo-2016.

ÍNDICES

Índice de palabras claves

A

agricultura de precisión.....	67
agroforestal.....	37
alimentos transgénicos	47
ambiental	85
análisis de imagen	33
antioxidante	63
Astragalus nitidiflorus	59

C

cálculo automatizado	55
----------------------------	----

Ch

CHP	75
-----------	----

C

clave	63
coneja	13
conejo.....	63
conservación	9, 59
cooperación al desarrollo.....	79
crecimiento micelar.....	33
cuadernos de campo	55

D

desarrollo rural.....	37, 79
destete-celo.....	105
diversidad	9
diversificación de cultivos	17

E

edafología.....	67
efector	21
efficiency	29
efficient energy use.....	75
emerging contaminants	41, 93
energy.....	113
enfermedad de Pompe	97
engines	113
enseñanza	79
enterococcus faecalis	71

F

fertilidad	121
feto-placentario.....	13
fibrosos.....	101
food industry	75
formación	79

forrajes	37
----------------	----

G

ganadería	37
glucógeno	97
grados día.....	109
granja virtual	85

H

hCG	105
huella de carbono	55

I

ingredientes	101
--------------------	-----

L

land use	25
limusina	121
liquid fuel	113

M

molleja.....	101
--------------	-----

O

oryza sativa	93
--------------------	----

P

PAC 2020	17
pago verde	17
PCR	47
pirenaica breed	29
PMSG.....	105
producción de leche.....	85
profits	29
profits and efficiency.....	29
prueba de letalidad embrionaria	71

R

reemplazo enzimático	97
rendimiento	101
respuesta de estrés.....	109
restricción.....	13
rice plants.....	41
rizobios.....	21

S

semen.....	63
simbiosis.....	21, 59
soja Round-up Ready	47

T

trucha arcoíris..... 109

U

UA-MSPD 93

uptake..... 41

V

variabilidad..... 33

variedades locales 9

vineyard..... 25

virulencia 71

Z

zona geográfica 121

Índice autores

Aliste, María	121
Ana González Arnaiz.....	25
Aramburu, Iratxe	67
Arrúe Gonzalo, Lucía	55
Aznar, Ramón	93, 41
Bautista, Ana	59
Bermejo-Poza, Rubén.....	109
Blanco García, Ana E.....	71
Bourebaba, Yasmina.....	21
Brito García, Lucía	9
Bueno, Aurora	13, 63, 117
Castañó, Javier	17
Chueca Prado, Leyre.....	29
Daza García, Jesús	97
De Diego, Álvaro.....	13
De la Cruz Martín, Irene	37
Díaz, Ana.....	21
Durán, David.....	59
Fernández Castro, León.....	79
Fernández-Muela, Montserrat	109
Gálvez Patón, Laura.....	33
García-Fernández, Canela	67
Gordo, Sergio.....	85
Igea Gracia, Francisco Javier	75
Juárez Arnedo, Miguel Ángel	105
Malina Carmina	97
Manzanares Palenzuela, Carmen Lorena	47
Martínez, Pilar	17
Medina Plana, Jesús Alberto	101
Meza Aydee.....	13, 63, 117
Morientes Lavín, Martaa	29, 105
Muñoz, Daniel	85
Navarro, Carlos.....	51
Nieto Camacho, José	89
Nieto García, Paula.....	97
Ochoa, Yuri	67
Pacheco, Alba	59
Prades Prades, Beatriz Elena	105
Rodríguez, María	63, 117
Rosenberg, Klaus Philip	113
Salinero, Alvaro	21
Ventas, Alicia	85

Índice tutores

Alenda, Rafael	121
Alvir Morencos, María Remedios.....	105
Arce, Augusto	113
Argamenteria, Alejandro	51
Barreiro Elorza, Pilar.....	55, 67
Blanco, María	17
Boulila, Farida.....	21
Buxadé Carbó, Carlos	71
Curt, María Dolores	113
De Blas, Carlos	51
De la Fuente, Jesús.....	109
Elorza Barreiro, Pilar.....	33
González González, María Trinidad	75, 89
González Guerrero Manuel	97
Hernández Díaz-Ambrona, Carlos G.....	37, 79
Hontoria, Chiquinquirá.....	67
López Ruiz, Beatriz	47
López-Paredes, Javier.....	29, 121
Martin Clemente, Juan Pedro	47
Martín Fernández, Carmen	9
Mira Pérez, Sara	9
Navarro Villa, Alberto.....	101
Palmero Llamas, Daniel	33
Pérez Hugalde, Carlos.....	25
Rebollar, Pilar G.....	13, 63, 117
Rey, Luis.....	21, 59
Rodríguez, M.	13
Ruiz Amador, Diego	55
Ruiz-Argüeso, Tomás.....	59
Sakr, G. Osama	63
Salto-Weis Azevedo, Isabel	89
Tadeo, José Luis.....	41, 93
Vallejo, Antonio.....	41, 93
Villamide, M ^a Jesús	85
Villarroel, Morris	109
Vinatier, Fabrice	25

$$\int (\cos 2x - \sec 3x) dx$$

